Über ein neues Scopin-Alkaloid aus Datura Pittieri (Safford)

von
Hans Jürgen Zolleis
aus Nürnberg

W. STAUDACHER KLEINOFFSETDRUCK NÜRNBERG TRIERER STR. 26 TEL. 482593

Über ein neues Scopin-Alkaloid aus Datura Pittieri (Safford)

der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg

zur

Erlangung des Doktorgrades

vorgelegt von

Hans Jürgen Zolleis
aus Nürnberg

Als Dissertation genehmigt
von der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

Tag der mündlichen Prüfung: 16. 5. 1962
Dekan: Universitätsprofessor Dr. H. Volz
Berichterstatter: Universitätsprofessor Dr. R. Pfleger
Berichterstatter: Universitätsprofessor Dr. O. Dann

Meinen Eltern

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536528_0029

Herrn Professor Dr. R. Pfleger danke ich sehr herzlich für das Thema dieser Arbeit, für seine wertvollen Ratschläge und für die großzügige Unterstützung, die er mir jederzeit gewährt hat.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Einleitung	3
B. Allgemeiner Teil	
I. Isolierung und Trennung des Rohalkaloidbasengemisches	4
II. Charakterisierung von Alkaloid-I-Hydrobromid	15
III. Strukturaufklärung von Alkaloid-I-Hydrobromid	
1) Charakterisierung und Identifizierung der Alkaminkomponente	22
2) Charakterisierung und Identifizierung des stickstofffreien Hydrolyseproduktes	29
IV. Pharmakologische Untersuchung von Alkaloid-I-Hydrobromid	42
C. Experimenteller Teil	
I. Extraktion der Droge und Gewinnung des Rohalkaloidbasengemisches	48
II. Charakterisierung von Alkaloid I	59
III. Strukturaufklärung von Alkaloid I	
1) Hydrolyse von Alkaloid I	
a) mit einem schwach basischen Ionenaustauscher	62
b) mit verdünnter Kalilauge	65
2) Alkalische Hydrolyse von Alkaloid-I-Methoxymethobromid	66
3) Versuche zur Razemisierung des optisch aktiven sauren Hydrolyseproduktes von Alkaloid I	66
4) Oxydativer Abbau des sauren Hydrolyseproduktes von Alkaloid I	67
IV. Herstellung von Vergleichssubstanzen	
1) Atropin-Hydrobromid	69
2) Scopolin-Hydrobromid; Scopolin-Methobromid	69
3) Scopin-Methobromid	70
4) DL-α-Phenylglycerinsäure.	70
5) Versuche zur Razemattrennung der DL-α-Phenylglycerinsäure	
a) durch Salzbildung mittels optisch aktiver Basen	71
b) mittels Adsorptionschromatographie	72

Seite

V. Pharmakologische Untersuchung von Alkaloid-I-Hydrobromid 73

D. Zusammenfassung 75

E. Literaturverzeichnis 77

A. Einleitung

Von R. Oberle (1) wurden die Früchte der in Südamerika, vor allem in Venezuela und Kolumbien, beheimateten Solanaceenpflanze Datura Pittieri (Safford) erstmalig auf etwa vorhandene Alkaloide untersucht, von denen man annahm, daß sie für die eigenartigen Wirkungen der Droge auf den menschlichen Organismus verantwortlich seien. Starke Mydriasis, Excitationsstadium und nachfolgender Dämmerschlaf, verbunden mit kurzzeitiger Auslöschung des Gedächtnisses, zählen zum Wirkungsbild dieser Droge. In den Früchten war neben Atropin und Scopolamin ein bisher unbekanntes Datura-Alkaloid enthalten, das Alkaloid I genannt wurde.

In der vorliegenden Arbeit wird die Methode zur Isolierung der einzelnen Alkaloide verbessert, die Strukturaufklärung von Alkaloid I angegangen und dieses pharmakologisch untersucht.

B. Allgemeiner Teil.

I. Isolierung und Trennung des Rohalkaloidbasengemisches

Aus der gepulverten und mit Petroläther entfetteten Droge wurde entsprechend den Angaben von R. Oberle (1) durch Extraktion mit ammoniakalischem Chloroform eine dunkelbraune, trübe, sirupartige Masse von eigenartigem Geruch isoliert, die mit Mayers und Dragendorff-Reagens stark positiv reagierte und eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D^{20} = -14{,}59^\circ$ (c = 4,25; Chloroform) aufwies. Dieses sogenannte Rohalkaloidbasengemisch enthielt, wie die papierchromatographische Untersuchung zeigte, die beiden Hauptalkaloide Scopolamin und Alkaloid I etwa im Verhältnis 3:1, daneben noch eine geringe Menge von Atropin und Scopolin. Da Oberle (1) letzteres erst nach einer multiplikativen Verteilung des Rohalkaloidbasengemisches nachweisen und außerdem eine Bildung während der Extraktion ausschließen konnte, mußte obige zur Extraktion verwendete Droge bereits Scopolin enthalten. Die Ausbeute an Rohalkaloidbasengemisch betrug im Durchschnitt o,55% (bezogen auf die Gesamtdroge).

Wie bereits von Oberle gefunden wurde, ist es möglich, einen großen Teil des im Rohalkaloidbasengemisch enthaltenen, am schwächsten basischen Scopolamins von Alkaloid I, Atropin und Scopolin abzutrennen, wenn man das Rohalkaloidbasengemisch in Zitronensäure-Phosphat-Puffer löst und mehrmals mit Chloroform ausschüttelt. Oberle gibt dazu einen p_H- Wert von 3,5 an, während in der vorliegenden Arbeit ein p_H von 4,5 - 4,7 als günstiger gefunden wurde. Andererseits konnte das am stärksten basische Scopolin weitgehend in der Weise entfernt werden, daß die bei p_H 4,5 - 4,7 ausgeschüttelte Pufferlösung zunächst nur auf p_H 6 eingestellt und erneut mit Chloroform ausgeschüttelt wurde. Hierbei verbleibt dann der überwiegende Teil des Scopolins in der Wasserphase, während das an Alkaloid I angereicherte Alkaloidgemisch extrahiert wird.

Zur Bereitung der Pufferlösung wurde bislang das in Wasser nur mäßig lösliche Dinatriumphosphat verwandt, das nunmehr durch das sehr leicht lösliche Dikaliumphosphat ersetzt wurde, so daß die Pufferlösung stärker konzentriert und jeweils eine größere Menge Rohalkaloidbasengemisch aufgearbeitet werden konnte. Dies erwies sich als sehr vorteilhaft, weil dadurch die für präparatives Arbeiten erforderliche Chloroformmenge, die für jede Ausschüttelung das zehnfache der wäßrigen Lösung beträgt, nicht ins Unermeßliche stieg.

Die prozentuale Verteilung des Rohalkaloidbasengemisches über die einzelnen Fraktionen, sowie deren papierchromatographisch ermittelte Zusammensetzung ist in nachstehender Tabelle zusammengestellt:

Tabelle Nr. 1

P_H	Zahl der Ausschüttelungen	Fraktion	Rohalkaloidbasengemisch-Einwaage: 2,13 g	2,32 g	5,08 g	10,15 g — Ausbeute (in %) (bezogen auf Gesamtauswaage)	Zusammensetzung der einzelnen Fraktionen: Scopolamin	Alkaloid I	Atropin	Scopolin
4,5	1. - 10.	I	52.44	61 21	46.11	46 51	+++	(+)	(+)	-
6	11.	II	22,12	18 86	25.68	26.08	+++	++	(+)	-
6	12. - 15.	III	16.04	13,95	17.22	15 55	++	++	(+)	(+)
6	16. - 20.	IV	4,5	3,29	5 27	4.6	(+)	+++	(+)	+
7-8	21. - 22.	V	4.9	2,69	5.72	7.26	(+)	++	(+)	++

Abkürzungen: - = negativ; (+) = sehr wenig; + = wenig;
++ = viel; +++ = sehr viel.
Anmerkung: Papierchromatographische Versuchsbedingungen
siehe Seite 51 .

Das Verfahren wurde mit 2 bis lo g Rohalkaloidbasengemisch durchgeführt und dabei festgestellt, daß unabhängig von der eingesetzten Rohalkaloidmenge nahezu gleichbleibende Ergebnisse erzielt wurden. Es lassen sich durchschnittlich etwa 5o% des Rohalkaloidbasengemisches in Form von nahezu reinem Scopolamin abtrennen, und dabei resultieren dann Gemische, die überwiegend Alkaloid I neben einer geringen Menge Scopolamin bzw. Scopolin enthalten.

Nachdem das Rohalkaloidbasengemisch unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Basizität seiner Bestandteile durch einfaches Ausschütteln einer gepufferten wäßrigen Lösung mit Chloroform nur sehr unvollständig zu trennen ist, Alkaloid I aber beachtlich angereichert wird, war zu prüfen, ob mit einer Craig-Verteilung über vier Stufen unter Verwendung des Systems Chloroform-Zitronensäure-Phosphat-Puffer eine bessere Trennung zu erreichen ist. Hierbei hat es sich als sehr zweckmäßig erwiesen, die Verteilung bei p_H 5,5 vorzunehmen, da hierbei das schwächer basische Scopolamin und Alkaloid I überwiegend in der stationären Phase verbleibt, während das stärker basische Scopolin mit der mobilen Phase weiter wandert. Als mobile Phase diente die Pufferlösung, als stationäre Phase das Chloroform. Am Ende der vierstufigen Verteilung wurde der Inhalt der einzelnen Elemente ammoniakalisch gemacht, und nach mehrmaligem Ausschütteln mit Chloroform der Rückstand der Chloroformphasen durch Wägung bestimmt. Die Zusammensetzung der einzelnen Fraktionen zeigt nachstehende Tabelle.

Tabelle Nr. 2

Fraktion (=Element)	Rohalkaloidbasengemisch-Einwaage: 1.09g	17,82g	29.89g	33.46g — Ausbeute (in %) (bezogen auf Gesamtauswaage)			Zusammensetzung der einzelnen Fraktionen: Scopolamin	Alkaloid I	Atropin	Scopolin
0	21,24	17,52	16.25	13.52			+++	–	(+)	–
1	36.98	32,45	29.65	31.04			+++	(+)	–	–
2	25,07	27.93	28.62	29.92			++	++	(+)	(+)
3	16,71	22,10	25.48	25.52			+	++	(+)	++

Abkürzungen: siehe Tabelle Nr. 1 .

Anmerkung: Papierchromatographische Versuchsbedingungen, siehe Seite 53 .

Eine Erhöhung der eingesetzten Rohalkaloidbasengemischmenge führte qualitativ wie quantitativ praktisch zum gleichen Ergebnis. Es bahnt sich also bei Verwendung des genannten Lösungsmittelsystems bereits bei einer Verteilung über nur vier Stufen eine Trennung der einzelnen Alkaloide an. Ein großer Vorteil dieses Verfahrens ist weiterhin, daß es das mit großem Zeit- und Materialaufwand verbundene fraktionierte Ausschütteln gepufferter wäßriger Rohalkaloidbasengemischlösungen mit Chloroform überflüssig macht, da es praktisch zum gleichen Ziel führt.

Eine merkwürdige Beobachtung bei sämtlichen Versuchen war die Tatsache, daß in Element 1 papierchromatographisch niemals Atropin nachzuweisen war, dagegen stets in Element 0, 2 und 3. Da in Element 0 die schwächer basischen, in Element 2 und 3 die stärker basischen Alkaloide enthalten sind, kann das in Element 0 und Element 3 enthaltene Atropin nicht identisch sein, es muß sich um zwei verschieden stark basische Alkaloide mit gleichem Rf-Wert handeln. Da diese beiden "Atropine" im Rohalkaloidbasengemisch nur in sehr geringer Menge enthalten sind, ist es auch im weiteren Verlauf der Arbeit nicht möglich gewesen, die beiden Alkaloide zu isolieren und zu charakterisieren. Papierchromatographisch hatte es sich jedoch ergeben, daß entsprechend den Ergebnissen einer vierstufigen Craig-Verteilung weit mehr von jenem stärker basischen Alkaloid im Rohalkaloidbasengemisch enthalten ist als von dem schwächer basischen. Bei ersterem sollte es sich um Atropin handeln, zumal dessen Basizität mit der von Oberle beobachteten übereinstimmt. Es konnte gezeigt werden, daß reines Atropin sich bei einer vierstufigen Craig-Verteilung unter gleichen Bedingungen genauso verhält wie jenes stärker basische Alkaloid: Atropin ist dann ebenfalls nahezu quantitativ in Element 2 und 3 enthalten, während Element 0 völlig frei davon ist.

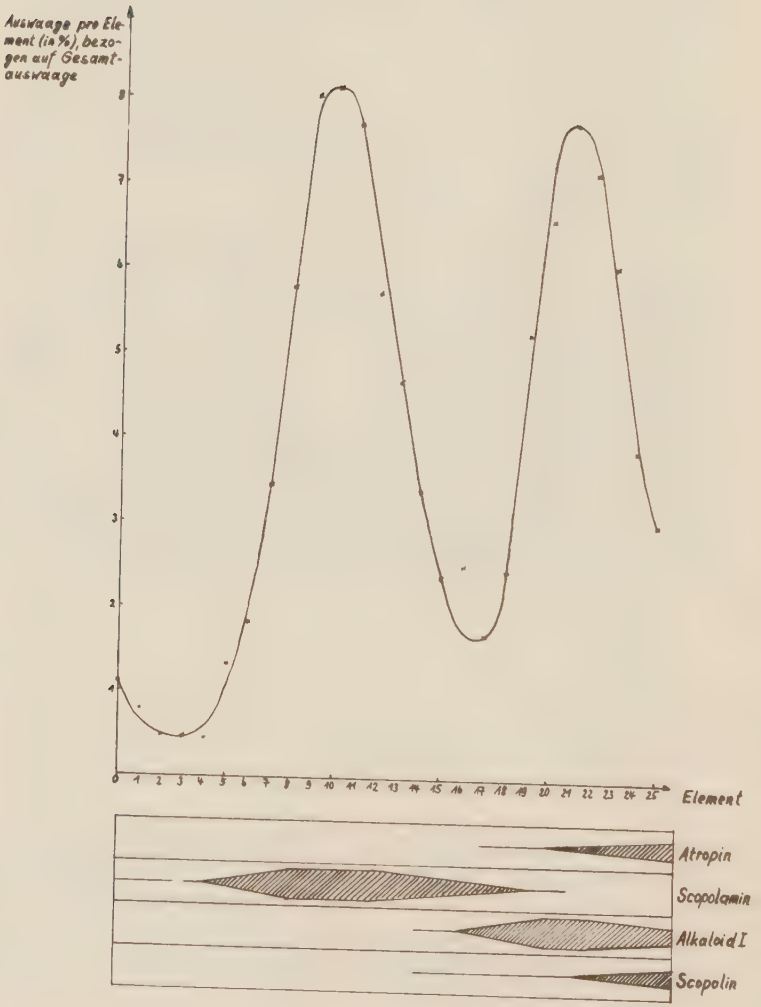
Eine weitere Anreicherung von Alkaloid I konnte durch eine 26-stufige Craig-Verteilung der sich aus einer vierstufigen Verteilung ergebenden Alkaloidfraktion 2 (Element Nr. 2) erzielt werden. Bei Verwendung des gleichen Systems Chloroform - Zitronensäure - Phosphat - Puffer - Lösung

von p_H 5.5 läßt sich die "Alkaloid-Fraktion 2", die neben sehr wenig Atropin und Scopolin vor allem Alkaloid I und Scopolamin enthält, weiter auftrennen. Das Ergebnis ist in der Verteilungskurve Nr. 1 mit angefügtem Schema zusammengefaßt.

Die Zeichen bzw. bedeuten einen zunehmenden bzw. abnehmenden, einen gleichbleibenden Gehalt des jeweiligen Alkaloides von Element zu Element. Außerdem bringt die Pfeil- bzw. Balkenbreite annähernd die mengenmäßige Verteilung der einzelnen Basen innerhalb des betreffenden Elements zum Ausdruck: Je breiter ein solches Zeichen ist, um so größer ist die Alkaloidmenge im jeweiligen Element; ein ——— bedeutet, daß das Alkaloid nur in sehr geringer Menge vorhanden ist.

Aus der Verteilungskurve Nr. 1 mit angefügtem Schema ist zu ersehen, daß eine weitgehende Trennung der einzelnen Basen erzielt werden konnte. Etwa 9o% der ursprünglich vorhandenen Scopolamin-Menge wurden dabei in ziemlich reiner Form abgetrennt, während Alkaloid I sich vor allem in den Elementen 16-25, Scopolin in den Elementen 21-25 befand. Atropin verteilte sich gleichmäßig über die Elemente 17-25. Das Verteilungsmaximum für Scopolamin lag bei Element 1o, das von Alkaloid I dagegen bei Element 21. Eine Aenderung der Einwaage bei konstanten Volumenverhältnissen hatte auf den Verteilungsvorgang keinen nennenswerten Einfluß.

Verteilungskurve Nr. 1

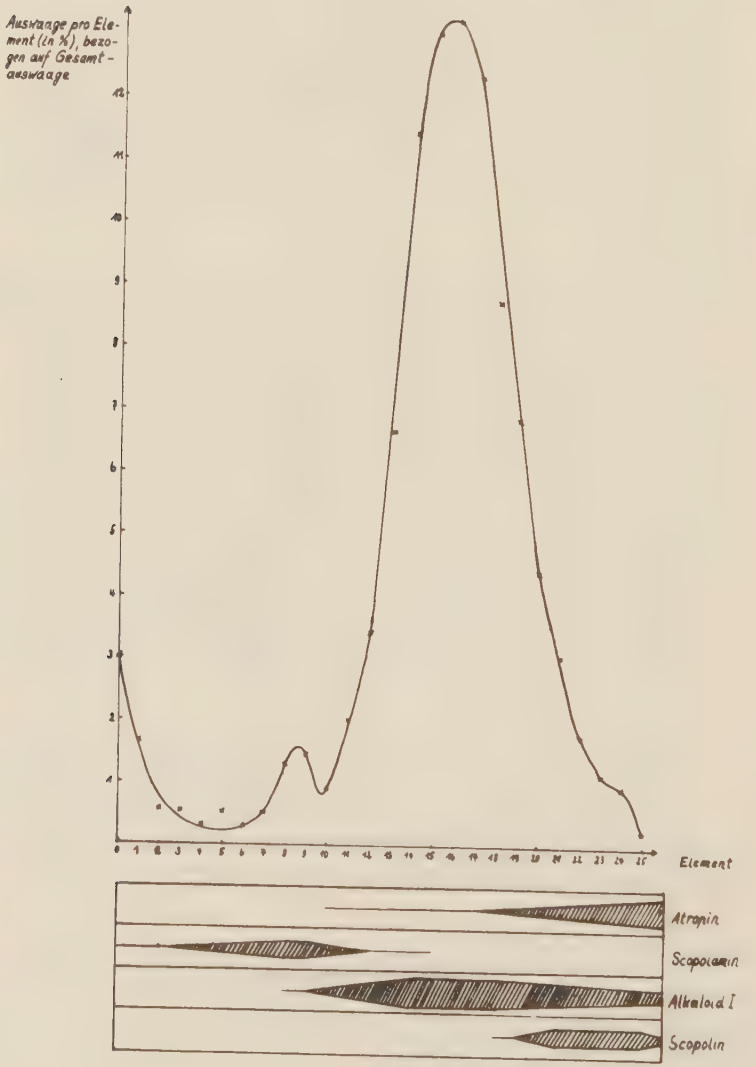


Eine vollständige Abtrennung des in den Elementen 19-25 bereits stark angereicherten Alkaloid I von dem in geringer Menge vorhandenen Scopolin und Atropin gelang schließlich durch eine weitere 26-stufige Craig-Verteilung unter Verwendung des gleichen Systems bei $p_H 6$. Das Ergebnis der papierchromatographischen Untersuchung der einzelnen Fraktionen ist wieder schematisch zusammengefaßt, die quantitative Auswertung ergab die beigefügte Verteilungskurve Nr. 2. Die Elemente 0-10 enthielten fast das ganze restliche Scopolamin, die Elemente 11-17 nun die Hauptmenge fast reinen Alkaloids I neben geringsten Mengen von Atropin und Scopolamin.

Vergleicht man die Kurven der beiden Verteilungen bei $p_H 5{,}5$ und 6, so sieht man, daß sich durch eine geringfügige Aenderung des p_H-Wertes (5,5 → 6,0) das Maximum für Alkaloid I beträchtlich nach links verschoben hat, während das für Scopolin und Atropin sich auf der rechten Seite viel stärker zusammendrängt. Je schwächer sauer also die mobile Phase wird, desto langsamer wandern Alkaloid I und Scopolamin, verbleiben also bevorzugt in der Chloroformphase, so daß sich dann eine Abtrennung von dem schneller wandernden Scopolin und Atropin erreichen läßt. Durch obige Verteilung war also Alkaloid I in einigen Elementen (11-17) so stark angereichert worden, daß nach Salzbildung und Umkristallisation die geringfügigen Verunreinigungen (Scopolamin bzw. Atropin) abgetrennt und Alkaloid I in kristalliner Form dargestellt werden konnte.

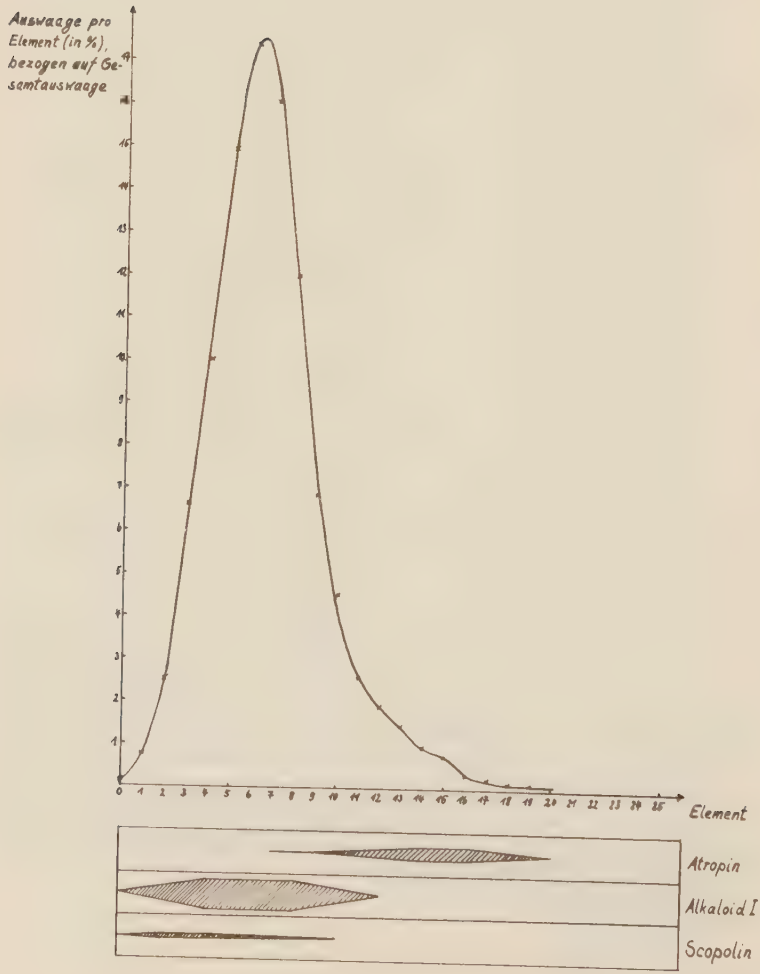
Eine Gewinnung von Alkaloid I aus dem Rohalkaloidbasengemisch mittels Craig-Verteilung hat gegenüber einer Verteilungschromatographie an Silicagel den Vorteil, daß sich präparativ größere Rohalkaloidmengen bei geringerem Zeit- und Materialaufwand trennen lassen.

Verteilungskurve Nr. 2



Eine vollständige Abtrennung von Alkaloid I aus den Scopolin- und Atropin-haltigen Fraktionen (Element 17 - 25) ist nicht möglich gewesen, da eine ideale Verteilung der einzelnen Alkaloide zwischen den beiden Phasen offenbar infolge gegenseitiger Beeinflussung nicht eintreten kann. Dies ist wohl aus der Tatsache zu entnehmen, daß Alkaloid I stets auch in allen Scopolin- und Atropin-haltigen Fraktionen anzutreffen ist. Eine erneute Verteilung mit dem bisher benutzten Lösungsmittelsystem, auch bei weiteren Aenderungen des p_H-Wertes, würde kaum zum gewünschten Ziel führen. Die Isolierung des auch in den Atropin- und Scopolin-haltigen Fraktionen (17-25) enthaltenen Alkaloid I war in Anbetracht der nur in begrenzter Menge zur Verfügung stehenden Droge notwendig. Aussichtsreich erschien hierfür, vor allem für die Abtrennung von Atropin, eine Verteilung in dem System n-Butanol-Eisessig-Wasser (4 : 1 : 5), nachdem zumindest papierchromatographisch mit diesem Lösungsmittelsystem eine gute Trennung der einzelnen Komponenten zu erreichen war. Entsprechend seinem Rf-Wert (>Rf von Alkaloid I und Scopolin) sollte Atropin bei einer entsprechenden Craig-Verteilung schneller wandern als die übrigen Basen. Das qualitative und quantitative Ergebnis einer 26-stufigen Craig-Verteilung ist in der Verteilungskurve Nr. 3 mit angefügtem Scheme zusammengestellt. Atropin ist erwartungsgemäß mit der mobilen Phase gewandert und ist maximal im Element 14-15 vorhanden; in den Elementen 13-19 liegt es sogar in reiner Form vor; wegen der geringen Menge war eine Identifizierung durch Salzbildung jedoch nicht möglich. Alkaloid I verblieb bevorzugt in der stationären Phase und war vor allem in den Elementen 1 - 11 enthalten. Scopolin verhielt sich demnach praktisch genauso wie Alkaloid I, und war infolgedessen auch auf diesem Wege nicht restlos von Alkaloid I abzutrennen; ungeachtet des sehr geringen Scopolin- bzw. Atropin-Gehaltes war der Inhalt der Elemente 1-8 zur Reindarstellung von Alkaloid I bereits geeignet.

Verteilungskurve Nr. 3



Abschließend sei der besseren Uebersicht wegen die Gewinnung von nahezu reiner Alkaloid-I-Base nochmals kurz zusammengefaßt. Das Rohalkaloidbasengemisch wird zunächst einer vierstufigen Craig-Verteilung in dem Lösungsmittelsystem Chloroform-Zitronensäure-Phosphat-Puffer bei p_H 5.5 unterworfen, wodurch die Hauptmenge Scopolamin (etwa 50% des Rohalkaloidbasengemisches) entfernt wird. Aus dem verbleibenden an Alkaloid I angereicherten Basengemisch wird dann durch eine 26-stufige Craig-Verteilung unter gleichen Bedingungen der Rest des Scopolamins abgetrennt, während zur Entfernung des Scopolins eine zweite analoge Verteilung bei p_H 6 auszuführen ist. Das nach diesem Verfahren gewonnene Roh-Alkaloid I ist trotz geringer Verunreinigungen durch Atropin, Scopolamin bzw. Scopolin zur Darstellung von kristallisiertem Alkaloid-I-Hydrobromid geeignet.

II. Charakterisierung von Alkaloid-I-Hydrobromid.

Das aus Alkaloid-I-Base in ätherischer Lösung durch Zusatz von bromwasserstoffhaltigem Aether erhaltene Hydrobromid kristallisiert aus Isopropanol in feinen weißen Kristallen vom Schmelzpunkt 198-99°.

Alkaloid-I-Hydrobromid kann auch in einer niedrig schmelzenden Form erhalten werden, nämlich dann, wenn papierchromatographisch reines Alkaloid-I-Hydrobromid in Wasser gelöst und die Lösung im Vakuumexsikkator über konzentrierter Schwefelsäure zur Trockene gebracht wird. Im Gegensatz zum voluminösen, fein kristallinen, weißen Ausgangsmaterial resultieren hier schwere, farblose, durchsichtige Kristallprismen vom Schmelzpunkt 116-18°. Papierchromatographisch ergab sich kein Unterschied zur höher schmelzenden Form; außerdem sind die beiden Formen durch Kristallisation aus Wasser bzw. Isopropanol reversibel ineinander überführbar. Durch Elementaranalyse konnte schließlich bewiesen werden, daß es sich bei der niedrig schmelzenden Form um ein Monohydrat handelt.

Bemerkenswert ist auch die große Beständigkeit von Alkaloid-I-Hydrobromid in wäßriger Lösung; nach sechs Monate langem Stehen bei 3-5° konnte papierchromatographisch keinerlei Veränderung festgestellt werden. Scopolamin-Hydrobromid zeigte das gleiche Verhalten, während Atropin-Hydrobromid nach vier bis fünf Monaten teilweise Tropin als Hydrolyseprodukt entstehen ließ.

Alkaloid I ist optisch aktiv; die spezifische Drehung des Hydrobromids beträgt

$[\alpha]_D^{21} = -10{,}60^\circ \pm 0{,}14^\circ$ (c = 1,48;Wasser).
$[\alpha]_D^{21} = -10{,}07^\circ \pm 0{,}34^\circ$ (c = 0,74;Wasser).

In dem angegebenen Konzentrationsbereich besteht keine Konzentrationsabhängigkeit der spezifischen Drehung.

Der R_f-Wert von Alkaloid-I-Hydrobromid ist dem anderer Solanaceenalkaloide in nachstehender Tabelle gegenübergestellt. Auffallend ist, daß der Rf-Wert von Alkaloid-I-Hydrobromid dann deutlich niedriger ist, wenn es im Gemisch mit anderen Alkaloiden vorliegt. Es scheint auch hier eine gewisse gegenseitige Beeinflussung einzutreten, wie dies schon bei den Craig-Verteilungen vermutet wurde. (vgl. Seite 12).

Tabelle Nr. 3

Verbindung	Rf-Werte			
Alkaloid-I-Hydrobromid	0,50	-	-	-
Scopolamin-Hydrobromid	-	0.59	-	-
Atropin-Hydrobromid	-	-	0,73	-
Valeroidin-Hydrobromid	-	-	-	0,76
Gemisch	0,46	0,60	0,75	0,75

Anmerkung: Papierchromatographische Versuchsbedingungen siehe Seite 60 .

Für Alkaloid-I-Hydrobromid ergibt sich auf Grund der Elementaranalyse die Bruttoformel zu $C_{17}H_{22}NO_5Br$, für die Base nach Abzug von 1 Mol Bromwasserstoff $C_{17}H_{21}NO_5$, womit sich die von Oberle (1) durch Analyse von Alkaloid-I-Pikrat gefundene Formel eindeutig bestätigen ließ.

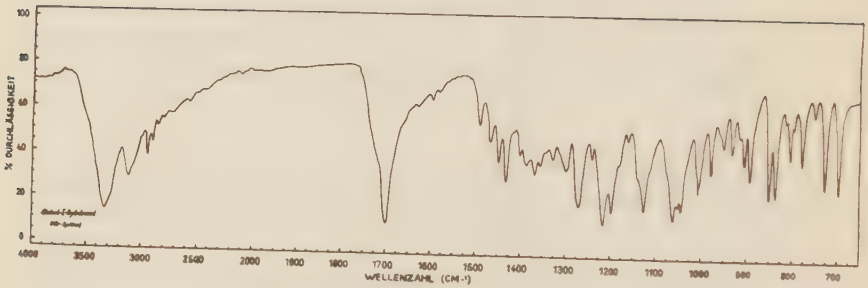
Alkaloid I unterscheidet sich also in seiner Summenformel vom Scopolamin ($C_{17}H_{21}NO_4$) nur durch den Gehalt eines weiteren Sauerstoffatoms. Weiterhin enthält Alkaloid I eine N-Methyl-Gruppe, während O-Methyl-Gruppen nicht nachzuweisen sind.

Ein weiterer Hinweis für die große Aehnlichkeit von Alkaloid-I-Hydrobromid mit Atropin-Hydrobromid und Scopolamin-Hydrobromid konnte mittels UV-Spektroskopie erbracht werden: Die UV-Spektren der drei genannten Alkaloide zeigen einen gleichartigen Verlauf mit gleichen Absorptionsmaxima, nämlich bei 251, 257 und 263 mμ. Das UV-Spektrum von Alkaloid I ist nachstehend (siehe Spektrum Nr.1) in Abhängigkeit vom p_H-Wert wiedergegeben.

Von Alkaloid-I-Hydrobromid wurde ebenfalls das IR-Spektrum aufgenommen; zum Vergleich dienten die IR-Spektren von Atropin-Hydrobromid und Scopolamin-Hydrobromid. Auch hierbei ergab sich durch einen einfachen Vergleich eine gewisse Aehnlichkeit mit den genannten Solanaceenalkaloiden, so daß mit großer Wahrscheinlichkeit Alkaloid I unter Berücksichtigung aller bisherigen Befunde (Elementaranalyse, Papierchromatogramm, UV- und IR-Spektren) in die Reihe der Tropaester einzuordnen sein wird (siehe Spektrum Nr. 2, 3 und 4). Eine Diskussion der IR-Spektren wird im Zusammenhang mit den Abbauprodukten von Alkaloid I gebracht (siehe Seite 40).

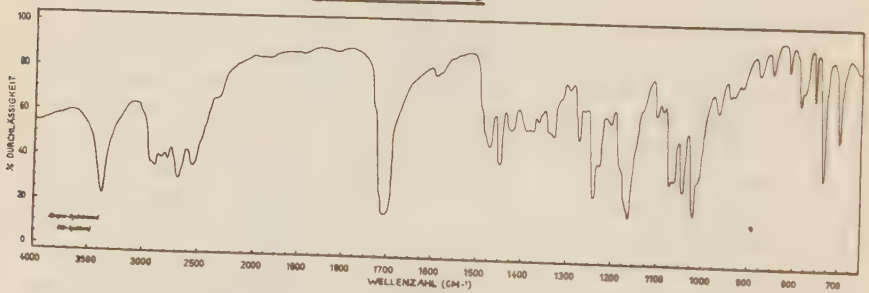
Spektrum Nr. 1

Spektrum Nr. 2



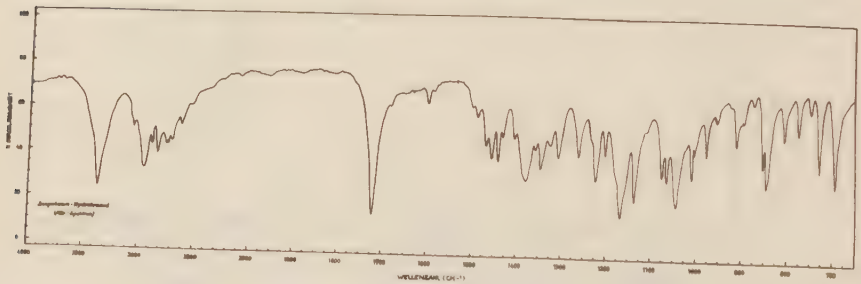
Alkaloid-I-Hydrobromid (KBr-Spektrum).

Spektrum Nr. 3



Atropin-Hydrobromid (KBr-Spektrum).

Spektrum Nr. 4



Scopolamin-Hydrobromid (KBr-Spektrum).

III. Strukturaufklärung von Alkaloid-I-Hydrobromid

Zur Ermittlung geeigneter Hydrolysebedingungen für Alkaloid-I-Hydrobromid wurden zunächst einige Vorversuche unter Verwendung von Atropin und Scopolamin unternommen.

Papierchromatographisch konnte gezeigt werden, daß Atropin-Base durch 27-stündiges Erhitzen in wäßriger Lösung vollständig hydrolysierbar ist, während Atropin-Sulfat bzw. Atropin-Hydrobromid unter gleichen Bedingungen nur zu etwa 20% bzw. 50% hydrolysiert werden.

Die Scopolamin-Base unterscheidet sich bei gleicher Behandlung von der Atropin-Base durch eine unvollständigere Hydrolysierbarkeit; nur etwa 50% werden hydrolysiert. Demnach ist dieses Alkaloid in wäßriger Lösung wesentlich beständiger als Atropin. Ein ähnliches Verhalten zeigen Atropin und Scopolamin bereits beim Aufbewahren in wäßriger Lösung bei niedriger Temperatur (vgl. Seite 15).

Es schien deshalb zweckmäßig zu sein, durch einen weiteren Modellversuch nachzuweisen, ob durch geeignete Zusätze die Hydrolyse von Atropin und Scopolamin beschleunigt und vervollständigt werden kann, wobei wiederum möglichst schonende Versuchsbedingungen Voraussetzung sein sollten. Es wurden Hydrolyseversuche in Gegenwart von Ionenaustauschern ausgeführt und dabei festgestellt, daß ein schwach basischer Ionenaustauscher am besten geeignet war. Dieser hatte noch den Vorzug, daß im Gegensatz zu stark basischen und sauren Ionenaustauschern bei 100° gearbeitet werden konnte. Mittels dieses schwach basischen Ionenaustauschers konnten sowohl Atropin-Hydrobromid und -Sulfat, als auch Scopolamin-Base und -Hydrobromid vollständig hydrolysiert werden, wobei die Säurekomponente jeweils quantitativ vom Ionenaustauscher gebunden wurde.

Auf Grund dieser erfolgversprechenden Ergebnisse wurde Alkaloid-I-Hydrobromid in analoger Weise behandelt, und papierchromatographisch festgestellt, daß die Spaltung vollständig verlaufen war; die Alkaminkomponente wurde als blaß gelblich gefärbter Sirup, die stickstofffreie Komponente in Form von feinen weißen Kristallen erhalten. Eine später vorgenommene Hydrolyse mit verdünnter Kalilauge unter sonst gleichbleibenden Bedingungen führte zu den gleichen Produkten.

Der besseren Uebersicht wegen sei nun im Folgenden zunächst die Charakterisierung und Identifizierung der Alkaminkomponente, im Anschluß daran die der stickstofffreien Komponente beschrieben.

1) Charakterisierung und Identifizierung der Alkaminkomponente.

Die anfangs in sirupöser Form vorliegende Alkaminkomponente erstarrte nach längerem Trocknen zu feinen gelblich - weißen hygroskopischen Kristallen vom Schmelzpunkt 104-06° (Sinterung bei 94°; unkorr.).

Ein papierchromatographischer Vergleich der Alkaminkomponente mit Tropin und aus Scopolamin gewonnenem Scopolin macht eine Identität mit letzterem bereits sehr wahrscheinlich. Andererseits schließt ein Vergleich mit verschiedenen Solanaceen-Alkaloiden eine Identität des aus Alkaloid I erhaltenen stickstoffhaltigen Abbauproduktes mit diesen aus.

Tabelle Nr. 4

Verbindung	Rf - Werte									Dragendorff-Färbung [1]
Hydrobromid der Alkaminkomponente von Alkaloid I	0.28	-	-	-	-	-	-	-	-	violett
Scopolin-Hydrobromid	0.27	-	-	-	-	-	-	-	-	violett
Alkaminkoponente von Alkaloid I (Base)	-	0.32	-	-	-	-	-	-	-	violett
Scopolin-Base	-	0.33	-	-	-	-	-	-	-	violett
Tropin-Base	-	-	0.44	-	-	-	-	-	-	violett
Alkaloid-I-Hydrobromid	-	-	-	0.46	-	-	-	-	-	orange
Scopolamin-Hydrobromid	-	-	-	-	0.59	-	-	-	-	orange
Meteloidin-Hydrobromid	-	-	-	-	-	0.62	-	-	-	gelb-orange
Homatropin-Base	-	-	-	-	-	-	0.63	-	-	orange
Atropin-Hydrobromid	-	-	-	-	-	-	-	0.66	-	orange
Valeroidin-Hydrobromid	-	-	-	-	-	-	-	-	0.74	orange

Anmerkung: Papierchromatographische Versuchsbedingungen siehe Seite 63.

Die Elementaranalyse ergab für das Hydrobromid der Alkaminkomponente eine Bruttoformel von $C_8H_{14}NO_2Br$, für die Base entsprechend $C_8H_{13}NO_2$; die Alkaminkomponente stimmt somit auch formal mit Scopolin überein.

Wenngleich sich eine geringe Abweichung in den Schmelzpunkten des Hydrobromids der Alkaminkomponente und von Scopolin-Hydrobromid (286° bzw. 275°) ergab, war bei der Bestimmung des Mischschmelzpunktes keine Depression feststellbar. Eine Identität der Alkaminkomponente mit Scopolin dürfte demnach als gesichert anzusehen sein.

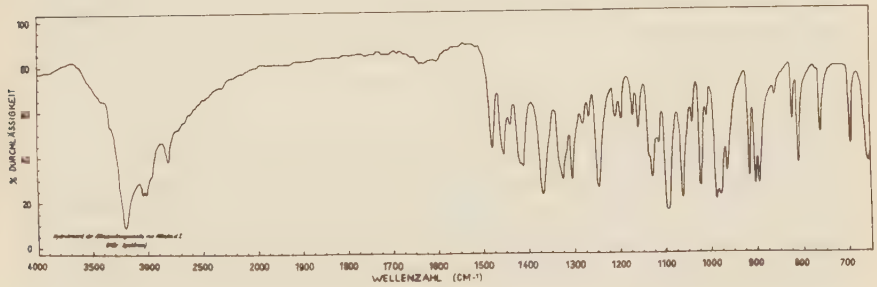
---

[1] Sprühreagenz nach Thies und Reuther (2).

Die Alkaminkomponente zeigt keine Absorption im ultravioletten Spektralbereich, was andererseits bedeutet, daß das ausgeprägte UV-Spektrum von Alkaloid I allein der stickstofffreien Hydrolysekomponente zuzuschreiben ist.

Ein Vergleich der IR-Spektren des Hydrobromids der Alkaminkomponente und von Scopolin-Hydrobromid ließ keinen Unterschied deutlich werden, so daß nun die Alkaminkomponente und Scopolin identisch sein müssen.

Spektrum Nr. 5



Hydrobromid der Alkaminkomponente von Alkaloid I (KBr-Spektrum).

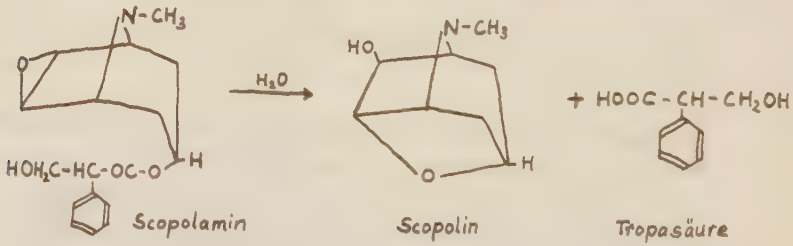
Abgesehen von einer kleinen Bande bei 712 cm^{-1} im Spektrum der Vergleichssubstanz, die wahrscheinlich von einer Verunreinigung herrührt, sind die beiden Spektren vollständig gleich. Die charakteristischen Banden für die Ammonium-, Hydroxyl- und Aethergruppierungen sind in nachstehender Tabelle wiedergegeben:

Tabelle Nr. 5

Banden	Hydrobromid der Alkamin-Komponente (cm^{-1})
Ammoniumgruppe	3200 1413
OH-Valenzschwingung OH-Deformationsschwingung (sekundäres OH)	3200 1095 1393
Aethergruppe	1325 1305 1095 1063 1042

Die starken Banden bei 3200 und 1413 cm^{-1} (N-Methyl), 3200 und 1095 cm^{-1} (Hydroxyl) und 1063 und 1042 cm^{-1} (Aether) bestätigen die wichtigsten Strukturelemente der Alkamin-Komponente bzw. des Scopolins.

Da bei der alkalischen Hydrolyse von Alkaloid I Scopolin entsteht, war nachzuweisen, ob Scopolin als solches ursprünglich vorliegt oder gegebenenfalls durch Umlagerung aus Scopin gebildet wird. Bekanntlich wird bei der alkalischen Hydrolyse von Scopolamin nicht das genuine Alkamin, Scopin, erhalten, sondern dessen Umlagerungsprodukt Scopolin:



Nach J. Meinwald und O. L. Chapman (3) läßt sich die Umlagerung von Scopolin bei der Hydrolyse von Scopolamin dann verhindern, wenn an Stelle von Scopolamin das entsprechende Methoxymethobromid eingesetzt wird. Diese Methode sollte demnach für den Nachweis geeignet sein, ob die Alkamin-Komponente in Alkaloid I Scopin- oder Scopolinstruktur besitzt.

Da nur begrenzte Mengen von Alkaloid I zur Verfügung standen,

schien es zweckmäßig zu sein, diese in der Literatur beschriebene Methode zunächst einmal auf ihre Brauchbarkeit zur Darstellung von Scopin in kristalliner Form vom Schmelzpunkt 73-75° zu prüfen. Erst nach Quarternisierung des stets öligen Produktes mit Methylbromid wurde ein mit dem von J. Meinwald und O. L. Chapman (3) beschriebenen Scopin-Methobromid (294-96°) übereinstimmendes kristallines Produkt vom Schmelzpunkt 291-92° erhalten.

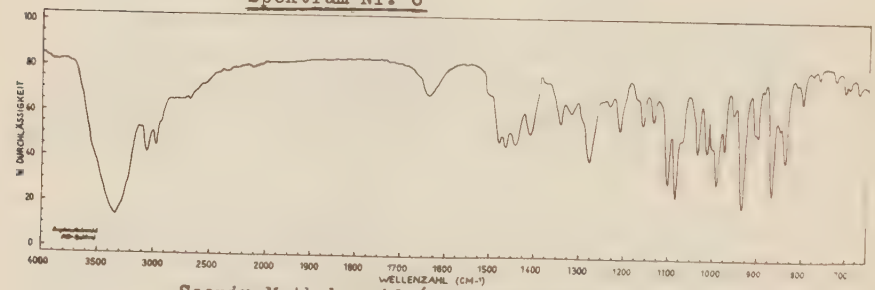
Die von den beiden Autoren angegebene Scopinausbeute (96%; bezogen auf die nicht wiedergewinnbare Scopolaminmenge) ist insofern unzutreffend, als papierchromatographisch gezeigt werden konnte, daß das nicht umgesetzte und wiedergewinnbare Ausgangsmaterial nicht, wie von den Autoren angegeben, nur Scopolamin darstellt, sondern mindestens zur Hälfte aus anderen stickstoffhaltigen Verbindungen zusammengesetzt ist.

Um sicher zu sein, daß es sich bei obigem Methobromid eindeutig um ein Scopin- und nicht etwa um ein Scopolinderivat handelt, wurde Scopolamin hydrolysiert und das dabei resultierende Scopolin in analoger Weise mit Methylbromid quarternisiert. Das erhaltene Scopolin-Methobromid unterschied sich zwar durch seine Kristallform sehr wesentlich von dem Scopin-Methobromid, jedoch der Schmelzpunkt lag bei 298 - 99° und somit im gleichen Schmelzbereich des Scopin-Methobromids. Eine Unterscheidung der beiden Produkte durch Bestimmung des Mischschmelzpunktes ist nicht möglich, denn nach R.B. Moffett und E.R. Garrett (4) erfolgt Umwandlung von Scopin-Methobromid in das entsprechende Scopolinderivat bereits bei Temperaturen unterhalb seines Schmelzpunktes. Eine eindeutige Differenzierung ist jedoch mit Hilfe der IR-Spektroskopie zu erreichen gewesen (siehe Spektrum Nr. 6 und Nr. 7). In nachstehender Tabelle sind die den funktionellen Gruppen entsprechenden Banden der beiden Methobromide angeführt.

Tabelle Nr. 6

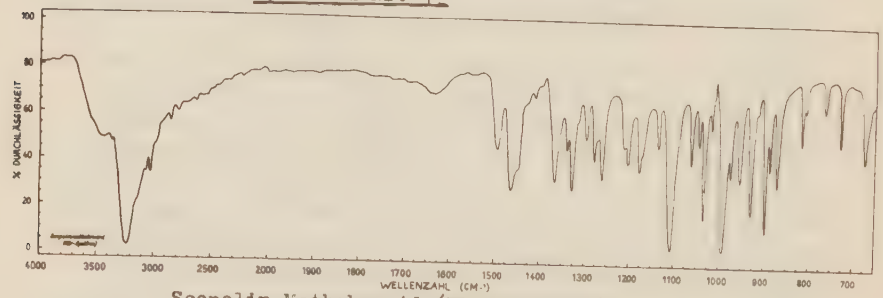
Bande	Scopin-Methobromid (cm^{-1})	Scopolin-Methobromid (cm^{-1})
OH-Valenzschwingung	3380	3230
OH-Deformationsschwingung (sekundäres OH)	1273 1083	1280 1107
Epoxydgruppe	1278 837	- -
Aethergruppe	- -	1063 1045

Spektrum Nr. 6



Scopin-Methobromid (KBr-Spektrum)

Spektrum Nr. 7

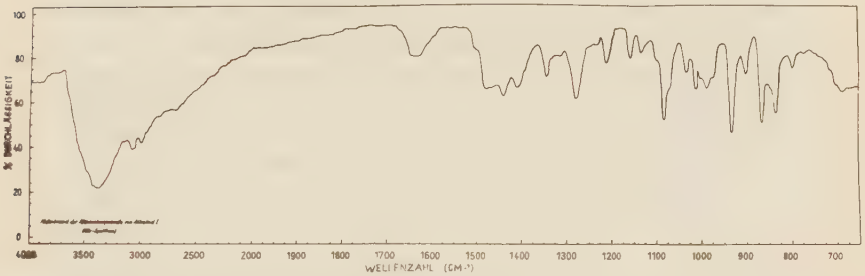


Scopolin-Methobromid (KBr-Spektrum)

Die von J. Meinwald und O.L. Chapman (3) beschriebene Hydrolyse von Scopolamin-Methoxymethobromid führt, wenn auch nur in geringer Ausbeute, zu dem genuinen Alkamin und sollte somit zum Nachweis einer Scopin- bzw. Scopolinstruktur bei Tropaalkaloiden geeignet sein, da eine Unterscheidung der beiden Methobromide einwandfrei möglich ist.

Aus diesem Grund wurde nun Alkaloid-I-Hydrobromid nach Ueberführung in die freie Base in analoger Weise quarternisiert und hydrolysiert und das Hydrolyseprodukt als Methobromid kristallisiert. Es wurde ein in Kristallform und Schmelzpunkt mit Scopin-Methobromid identisches Produkt erhalten, das sich auch in seinem IR-Spektrum dann nicht von jenem unterschied, wenn man von einer einzigen sehr schwachen Bande bei 1102 cm^{-1} absieht, die zwar in beiden Spektren, jedoch mit stark unterschiedlicher Intensität vorhanden ist und wohl nur Ausdruck für eine gleichartige Verunreinigung sein kann.

Spektrum Nr. 8



Scopin-Methobromid aus Alkaloid I (KBr-Spektrum)

Zusammenfassend ist zu sagen, daß Alkaloid I in Gegenwart eines basischen Ionenaustausches oder verdünnter Kalilauge zu Scopolin hydrolysiert wird, andererseits aber bei einer schonenden Hydrolyse seines Methoxymethobromids Scopin bildet. Es ist eindeutig nachgewiesen worden, daß Alkaloid I Scopinstruktur besitzt. Alkaloid I ist demnach neben Scopolamin das zweite natürlich vorkommende Scopinderivat in der Tropanreihe.

2) Charakterisierung und Identifizierung des stickstofffreien Hydrolyseproduktes.

Die bei der alkalischen Hydrolyse von Alkaloid I erhaltene stickstofffreie Komponente konnte in reiner Form vom Schmelzpunkt 125-26° dargestellt werden. Sie löst sich in wäßriger Natriumbikarbonatlösung, ihre wäßrige Lösung zeigt deutlich eine saure Reaktion, so daß es sich bei vorliegendem Hydrolyseprodukt um eine Säure handeln sollte. Damit in Einklang steht auch ihre Fixierung an den basischen Ionenaustauscher während der Hydrolyse von Alkaloid I in Gegenwart eines solchen Ionenaustauschers (vgl. Seite 21).

Das saure Hydrolyseprodukt ist optisch aktiv, seine spezifische Drehung ist vom jeweiligen Lösungsmittel abhängig, jedoch praktisch unabhängig von der Konzentration:

$[\alpha]_D^{22.2} = -22,32^\circ \pm 0,34^\circ$ (c=3,066; absolutes Aethanol)
$[\alpha]_D^{25.4} = -21,69^\circ \pm 0,26^\circ$ (c=1,533; absolutes Aethanol)
$[\alpha]_D^{24} = -13,92^\circ \pm 0,12^\circ$ (c=2,533; Wasser)
$[\alpha]_D^{24.5} = -11,82^\circ \pm 0,24^\circ$ (c=1,277; Wasser)
$[\alpha]_D^{23.5} = -0,45^\circ \pm 0,34^\circ$ (c=2,056; Pyridin)

Da Scopin als stickstoffhaltiges Hydrolyseprodukt von Alkaloid I nicht optisch aktiv sein kann, wird die optische Aktivität von Alkaloid I allein auf obige Säurekomponente zurückzuführen sein.

Wenn man die spezifische Drehung von Alkaloid I und dem sauren Hydrolyseprodukt auf die Molekulardrehung $[M]_D$ $\left(=[\alpha]_D \cdot \frac{M}{100}\right)$ umrechnet, so läßt sich der Einfluß des Scopinrestes auf die optische Aktivität der Säurekomponente deutlich machen. Gleiche $[M]_D$-Werte müßten dann resultieren, wenn der Scopinrest in Alkaloid I auf das Asymmetriezentrum der Säurekomponente ohne jeglichen Einfluß wäre. Die Molekulardrehung $[M]_D$ von Alkaloid I ist jedoch wesentlich größer als die des sauren Hydrolyseproduktes, so daß also ein deutlicher Einfluß des Scopinrestes auf die optische Aktivität der in Alkaloid I an Scopin gebundenen Säurekomponente gegeben ist. Dieser Einfluß entspricht wohl auch der

Vorstellung, daß die Asymmetrieverhältnisse des sauren Hydrolyseproduktes durch seine Bindung an Scopin vergrößert werden, was dann in einer Zunahme der optischen Aktivität zum Ausdruck kommt:

Alkaloid-I-Hydrobromid: $[\alpha]_D^{17} = -10{,}60^\circ$; $[M]_D^{17} = -42{,}4^\circ$ (Wasser)

Saures Hydrolyseprodukt: $[\alpha]_D^{24} = -13{,}92^\circ$; $[M]_D^{24} = -25{,}35^\circ$ (Wasser)

Durch papierchromatographische Untersuchungen unter Verwendung verschiedener Lösungsmittelsysteme konnte eine Identität des sauren Hydrolyseproduktes mit verschiedenen, in natürlich vorkommenden oder synthetischen Tropaalkaloiden gebundenen Säurekomponenten unter gleichzeitiger Berücksichtigung der Schmelzpunkte ausgeschlossen werden. Das saure Hydrolyseprodukt kann demnach weder Benzoesäure, Mandelsäure, Tropasäure, noch Crotonsäure oder Tiglinsäure sein.

Tabelle Nr. 7

Verbindung	Rf-Werte					Fluoreszenz im UV 1)	Fp
Säurekomponente von Alkaloid I	0,30		-	-	-	dunkelgelb	125-26°
Crotonsäure	0,30		-	-	-	goldgelb	72°
DL-Mandelsäure	-	0,33	-	-	-	blau-weiß	133,8°
DL-Tropasäure	-	-	0,36	-	-	goldgelb	117-18°
Benzoesäure	-	-	-	0,40	-	goldgelb	121,5°
Tiglinsäure	-	-	-	-	0,45	goldgelb	65°

Anmerkung: Papierchromatographische Versuchsbedingungen siehe Seite 64 .

1) Nach Behandlung mit Oxychinolinsulfat/Zinksulfat; nach M. Pesez und J. Ferrero (5).

Tabelle Nr. 8

Verbindung	Rf-Werte				Fluoreszenz im UV 1)
Säurekomponente von Alkaloid I	0,52	-	-	-	hellblau
DL-Mandelsäure	-	0,57	-	-	hellblau
DL-Tropasäure	-	-	0,58	-	hellblau
Benzoesäure	-	-	-	0,62	hellblau

Anmerkung: Papierchromatographische Versuchsbedingungen siehe Seite 65.

Die Elementaranalyse des sauren Hydrolyseproduktes führte zu der Summenformel $C_9H_{10}O_4$, die einer Formelbilanz für Alkaloid I dann gerecht wird, wenn man eine esterartige Bindung zwischen Scopin und obiger Säurekomponente annimmt und die durch eine Hydrolyse bedingte Aufnahme von einem Mol Wasser in Rechnung setzt:

Stickstoffhaltiges Hydrolyseprodukt (Scopin):	$C_8H_{13}NO_2$
Saures Hydrolyseprodukt:	$+ C_9H_{10}O_4$
	$C_{17}H_{23}NO_6$
- 1 Mol Wasser	$- H_2O$
Alkaloid I ($C_{17}H_{21}NO_5$)	$C_{17}H_{21}NO_5$

Obige Säurekomponente enthält drei aktive Wasserstoffatome. Da nur vier Sauerstoffatome in dem Molekül der Säurekomponente vorhanden sind, ist unter Berücksichtigung von drei aktiven Wasserstoffatomen eine Dikarbonsäurestruktur auszuschließen, so daß nur noch eine Monokarbonsäure mit zwei freien Hydroxylgruppen zu diskutieren ist.

1) Nach Behandlung mit Chinidin/Chloroform; nach E. Merck (6).

Ueber die in einem Molekül vorhandene Anzahl von Doppel- bzw. Ringbindungen lassen sich auf einfache Weise rechnerisch gewisse Aussagen machen. Die Säurekomponente ist eine Verbindung mit neun Kohlenstoffatomen. Für einen diesem C_9-Körper zugrundeliegenden vollständig gesättigten Kohlenwasserstoff errechnen sich in üblicher Weise (C_nH_{2n+2}) zwanzig Wasserstoffatome. Die Anzahl der Wasserstoffatome der Säurekomponente beträgt zehn, sodaß die sich ergebende Differenz von zehn Wasserstoffatomen Ausdruck sein kann für fünf Doppel- bzw. Ringbindungen. Da nun die Säurekomponente in ihrer Karbonylgruppierung bereits über eine Doppelbindung verfügt, verbleiben für das restliche Molekül noch vier Doppel- bzw. Ringbindungen. Die Summe von Doppel- und Ringbindungen muß stets gleich vier sein, so daß für obige Karbonsäure theoretisch folgende Verteilung von Doppel- und Ringbindungen möglich ist:

Typ	Doppelbindung	+ Ringbindung
I	4	0
II	3	1
III	2	2
IV	1	3
V	0	4

Verbindungen vom Typ IV und V sollten in vorliegendem Fall gegenstandslos sein, da 3- bzw. 4-Ringsysteme mit nur acht Kohlenstoffatomen infolge innerer Spannung kaum - wenn überhaupt - so beständig sein dürften, wie dies bei der Säurekomponente der Fall ist (siehe später). Verbindungen vom Typ I hätte man sich als eine Polyenkarbonsäure vorzustellen, solche vom Typ II als eine monocyclische ungesättigte Karbonsäure, solche vom Typ III als eine bicyclische ungesättigte Karbonsäure. Es war nun naheliegend, zunächst einmal vergleichende Untersuchungen mit Verbindungen vom Typ II auszuführen, zu denen vor allem die in der Natur vorkommende, an Tropaalkamine gebundene Tropasäure zählt.

Die UV-Spektren von DL-Tropasäure, ferner von DL-Mandelsäure und Phenylessigsäure zeigten im Vergleich mit dem des sauren Hydrolyseproduktes eine auffallende Uebereinstimmung; die Absorptionsmaxima der genannten Verbindungen lagen übereinstimmend bei 251, 257 und 263 mμ (siehe Spektrum Nr. 9). Das UV-Spektrum der β-Phenylpropionsäure unterscheidet sich eindeutig von den Spektren der α-Phenylalkylkarbonsäurederivate, so daß das saure Hydrolyseprodukt von Alkaloid I sehr wahrscheinlich ein Derivat einer α- Phenylalkylkarbonsäure darstellt, ein Derivat, das obigem Typ II (drei Doppelbindungen und eine Ringbindung) gerecht werden würde.

Nachdem alle bisherigen Betrachtungen für eine aromatische Struktur des sauren Hydrolyseproduktes sprechen, erschien für einen endgültigen Nachweis ein oxydativer Abbau sinnvoll. Das beim Abbau mit alkalischer Kaliumpermanganatlösung erhaltene kristalline Oxydationsprodukt vom Schmelzpunkt 118 - 19° (unkorr.) konnte mittels Papierchromatographie, UV-Spektroskopie und durch Bestimmung des Mischschmelzpunktes eindeutig als Benzoesäure identifiziert werden.

Das saure Hydrolyseprodukt muß demnach ein Phenylalkylkarbonsäurederivat sein. Die bereits postulierten zwei freien Hydroxylgruppen können keinesfalls kernständig sein; sie müssen am aliphatischen Teil des Moleküls gebunden sein, da beim oxydativen Abbau keine substituierte Benzoesäure resultierte. Unter Berücksichtigung sämtlicher analytischer Daten verbleibt für das saure Hydrolyseprodukt nur die einzig mögliche Struktur einer α-Phenylglycerinsäure. Ein synthetisch dargestelltes Produkt stimmte zwar in seinem UV-Spektrum mit dem des sauren Hydrolyseproduktes vollständig überein, allein der Schmelzpunkt des synthetischen Produktes (147-48°) lag wesentlich höher (siehe Spektrum Nr.10).

Spektrum Nr. 9

Spektrum Nr. 10

Auch papierchromatographische Untersuchungen sprachen für eine Identität der beiden Verbindungen, wie nachstehende Tabelle erkennen läßt:

Tabelle Nr. 9

Verbindung	Rf-Wert			Fluoreszenz im UV[1]
DL-α- Phenylglycerinsäure	0,38	-	-	grüngelb
Säurekomponente von Alkaloid I	0,38	-	-	grüngelb
DL-Tropasäure	-	0,41	-	gelb
DL-Mandelsäure	-		0,43	bläulich

Anmerkung: Papierchromatographische Versuchsbedingungen siehe Seite 65.

Der bestehende Schmelzpunktsunterschied von synthetischer α- Phenylglycerinsäure (147-48°) und dem sauren Hydrolyseprodukt (125-26°) braucht dann nicht im Widerspruch zu formal identischen Produkten zu stehen, wenn man berücksichtigt, daß es sich bei dem synthetischen Produkt um ein Razemat, bei dem aus Alkaloid I stammenden sauren Hydrolyseprodukt um eine optisch aktive Verbindung handelt, denn bekanntlich unterscheidet sich eine Razematform schmelzpunktsmäßig von den optischen Antipoden.

Für eine endgültige Identifizierung der Säurekomponente waren schmelzpunktsgleiche Produkte erforderlich, weshalb zunächst eine Spaltung der DL-α-Phenylglycerinsäure in die optischen Antipoden versucht wurde. Versuche zur Razematspaltung durch Salzbildung unter Verwendung einer optisch aktiven Base, z. B. Strychnin, Brucin, Chinin

---

[1] Nach Behandlung mit Oxychinolinsulfat/Zinksulfat; nach M. Pesez und J. Ferrero (5).

Chinidin, Cinchonin und Ephedrin, und anschließende fraktionierte Kristallisation des Diastereomerengemisches aus Isopropanol, Aceton, Essigester, Aethanol, Wasser und Gemischen der vorgenannten Lösungsmittel führten nicht zu dem gewünschten Ziel. Wahrscheinlich kristallisieren die erhaltenen α-phenylglycerinsauren Basen als Doppelsalze oder in Mischkristallen, was eine Trennung auf diesem Wege unmöglich macht.

W. Mayer und F. Merker (7) beschreiben eine Trennung razemischer Catechine in die optisch aktiven Antipoden mittels Adsorptionschromatographie an Cellulose, wobei Cellulose als "optisch aktives Reagenz" wirksam ist. Bei adsorptionschromatographischen Versuchen ist naturgemäß eine Doppelsalz- bzw. Mischkristallbildung wie bei obigen Versuchen nicht gegeben, weshalb die Durchführung solcher Versuche zur Trennung der α-Phenylglycerinsäure in ihre Antipoden sinnvoll erschien. Die gewünschte Trennung blieb jedoch auch hierbei aus.

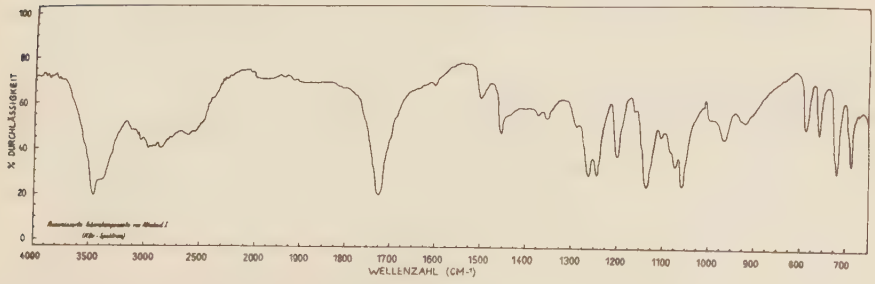
Eine andere Möglichkeit, zu schmelzpunktsgleichen Produkten zu kommen, bot sich in einer Razemisierung des optisch aktiven sauren Hydrolyseproduktes von Alkaloid I. Ein Versuch zur Razemisierung der Säurekomponente wurde zunächst nach einer Arbeit von A. Kerr (8) vorgenommen, wonach durch Behandlung von α-Chlor-Tropasäure mit Silberoxyd razemische α- Phenylglycerinsäure gewonnen wird. Die optisch aktive Säurekomponente von Alkaloid I wurde zunächst unter Verwendung von Thionylchlorid chloriert und dann in analoger Weise mit Silberoxyd behandelt. Das gewünschte Reaktionsprodukt konnte nicht in kristalliner Form abgetrennt werden.

Ein weiterer Razemisierungsversuch durch mehrstündiges Kochen mit 20%iger wäßriger Natronlauge war insofern ebenfalls negativ verlaufen, als nur Ausgangsmaterial

in unveränderter Form wieder zurückgewonnen werden konnte. Schließlich gelang eine Razemisierung durch vierstündiges Kochen der Säurekomponente in 20%iger wäßriger Salzsäure. Wenngleich auch nur eine geringe Menge einer sauer reagierenden und aus Essigester in farblosen Prismen kristallisierenden Substanz vom Schmelzpunkt 147-48° erhalten werden konnte, so war bei der Bestimmung des Mischschmelzpunktes mit synthetischer, ebenfalls aus Essigester umkristallisierter DL-α-Phenylglycerinsäure keine Depression zu beobachten. Demnach sollte eine Razemisierung der Säurekomponente in saurer Lösung eingetreten sein, wenngleich auch nur mit schlechter Ausbeute. Die schlechte Ausbeute braucht nicht weiter unbefriedigend zu sein; denn nach L.F.Fieser und M. Fieser (9) lassen sich Verbindungen, die am optisch aktiven Kohlenstoffatom kein Wasserstoffatom besitzen und deshalb nicht zur Enolisierung befähigt sind, nur sehr schwer, häufig überhaupt nicht razemisieren.

Da von der razemisierten Säurekomponente doch nur begrenzte Mengen zur Verfügung standen, konnte der Verlust der ursprünglichen optischen Aktivität experimentell nicht nachgewiesen werden. Es wurde deshalb von dem razemisierten und synthetischen Produkt das IR-Spektrum aufgenommen. Die beiden Spektren sind in sämtlichen Banden vollkommen identisch, so daß nun eine Identität des sauren Hydrolyseproduktes von Alkaloid I mit α-Phenylglycerinsäure als erwiesen anzusehen ist.

Spektrum Nr. 11



Razemisierte Säure-Komponente von Alkaloid I (KBr-Spektrum)

Die wichtigsten Banden des IR-Spektrums der Säurekomponente sind als Ausdruck für die geforderte Struktur zu werten; sie sind in nachstehender Tabelle zusammengestellt:

Tabelle Nr. 10

Banden	Razemisierte Säurekomponente von Alkaloid I (cm^{-1})
C=O -Valenzschwingung	1726
OH-Deformationsschwingung der Carboxylgruppe	918
Carboxylgruppe	1262 und 1244 (Dublett)
CH_2 -Deformationsschwingung	1455
C = C-Valenzschwingungen	1605 1500
OH-Valenzschwingung	3460
OH-Deformationsschwingung	
primäres OH	1057
tertiäres OH	1135
monosubstituierter Aromat	758
	738
	688 (nur bei monosubstituierten, nicht bei ortho-di-substituierten Aromaten)

In diesem Zusammenhang ist nun ein Vergleich der IR-Spektren von Alkaloid-I-Hydrobromid mit Scopolamin- und Atropin-Hydrobromid angebracht, der zeigen soll, in welchen Banden Uebereinstimmung von Alkaloid I mit Scopolamin bzw. Atropin besteht, und inwieweit das IR-Spektrum von Alkaloid I bereits in Einklang steht mit der geforderten Struktur eines Scopin-α-phenylglycerinsäureesters. Die wichtigsten Banden der drei Spektren sind in nachstehender Tabelle zusammengestellt; die Spektren selbst sind bereits auf Seite 19 wiedergegeben:

Tabelle Nr. 11

Banden	Atropin-HBr (cm^{-1})	Scopolamin-HBr (cm^{-1})	Alkaloid-I-HBr (cm^{-1})
C=O-Valenzschwingung	1708	1722	1700
Ammoniumgruppe	3370	3359	3330
	1423	1405	1402
CH_3-Valenzschwingung	2930	2942	2950
	2835	2815	2858
CH_2-Deformationsschwingung	1450	1456	1449
CH_2-Valenzschwingung	2900	2870	2900
	2780	2740	2800
CH_2-Deformationsschwingung	1472	1468	1468
C=C-Valenzschwingungen	1593	1598	1597
	1472	1500	1492
OH-Valenzschwingung	3370	3359	3330
			3120
OH-Deformationsschwingung			
primäres OH	1044	1045	1045
tertiäres OH	-	-	1128
monosubstituierter Aromat	753	749	750
	734	731	727
(nur bei monosubstituierten, nicht bei orthodisubstituierten Aromaten)	698	689	697
		1263	1270
Epoxydgruppe	-	914	907
		847	837

Wegen der nur unter kräftigen Bedingungen realisierbaren Razemisierung des optisch aktiven sauren Hydrolyseproduktes (=(-)-α-Phenylglycerinsäure) darf wohl angenommen werden, daß Alkaloid I selbst kein Gemisch aus Razemat und einem optisch aktiven Antipoden darstellt, sondern die reine optisch aktive Verbindung ist. α-Phenylglycerinsäure ist somit erstmalig, und zwar in der bisher unbekannten linksdrehenden Form als Bestandteil eines Naturproduktes aufgefunden worden.

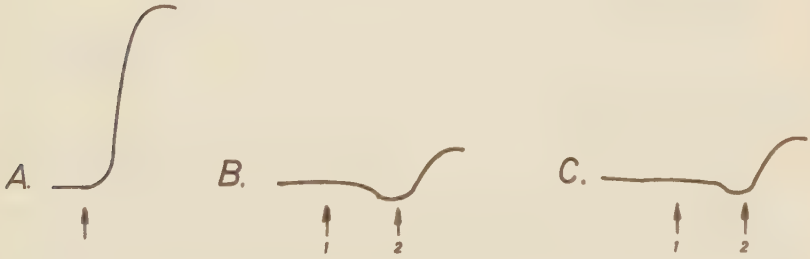
Zusammenfassend ist festzustellen, daß Alkaloid I als ein (-) -α- Phenylglycerinsäurescopinester neben Scopolamin den zweiten natürlich vorkommenden Scopinester darstellt, von dem man annehmen möchte, daß er als ein oxydatives Folgeprodukt von Scopolamin anzusehen ist.

IV. Pharmakologische Untersuchung von Alkaloid-I-Hydrobromid[1].

1) Spasmolytische Wirkung.

Die Acetylcholin-Kontraktion am isolierten Meerschweinchen-Dünndarm konnte durch die vorherige Gabe von Atropin-Sulfat, Scopolamin-Hydrobromid und Alkaloid-I-Hydrobromid zu 80 - 90 % unterbunden werden. Dabei stellte sich heraus, daß Atropin bzw. Scopolamin 15 bzw. 20 mal stärker spasmolytisch wirkten als Alkaloid I.

Abbildung Nr. 1

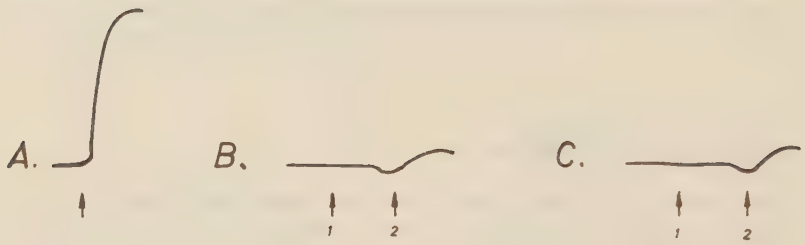


Isolierter Merrschweinchen-Dünndarm.
A = 1,5 γ Acetylcholin-Chlorid
B = (1) 0,75 γ Atropin-Sulfat
(2) 1,5 γ Acetylcholin-Chlorid
C = (1) 0,6 γ Scopolamin-Hydrobromid
(2) 1,5 γ Acetylcholin-Chlorid

---

1) Die pharmakologischen Untersuchungen wurden unter der Anleitung von Herrn Diplombiologen W. Pisker vorgenommen.

Abbildung Nr. 2



Isolierter Meerschweinchen-Dünndarm.
A = 2 γ Acetylcholin-Chlorid
B = (1) 1 γ Atropin-Sulfat
(2) 2 γ Acetylcholin-Chlorid
C = (1) 15 γ Alkaloid-I-Hydrobromid
(2) 2 γ Acetylcholin-Chlorid

2) Sekretionshemmende Wirkung.

Beim Kaninchen konnte die durch Pilocarpingabe geförderte Salivation durch gleiche Dosen Alkaloid-I-Hydrobromid oder Atropin-Sulfat zu etwa 80% gehemmt werden. Um mit Scopolamin-Hydrobromid die gleiche Hemmung zu erreichen, wurde nur etwa die halbe Menge benötigt.

Tabelle Nr. 12

Substanz	Dosis mg/kg/iv.	Pilocarpin-Hydrochlorid mg/kg/iv.	Sekretions-hemmung in %
Atropin-Sulfat	0,065	1,0	81,0
Scopolamin-Hydrobromid	0,035	1,0	80,3
Alkaloid-I-Hydrobromid	0,065	1,0	79,9

3) Mydriatische Wirkung

Die Wirkung von Alkaloid-I-Hydrobromid auf die Pupillenerweiterung war zehnmal schwächer als die des Scopolamin-Hydrobromids. Im Vergleich zu Atropin-Sulfat zeigte Alkaloid-I-Hydrobromid nur bei einer bestimmten Dosis (100γ/kg/sc.) die gleiche Wirkung, während bei einer niedrigeren Dosis (50γ/kg/sc.) Alkaloid-I-Hydrobromid schwächer wirkte.

Tabelle Nr.13

Substanz	Dosis γ/kg/sc.	Zahl der Meßwerte	maximale Pupillenerweiterung (Mittelwert) in %	nach Minuten
Atropin-Sulfat	50	40	181	4o-60
	100	40	212	40-60
Scopolamin-Hydrobromid	10	40	210	40-60
	20	40	258	60
Alkaloid-I-Hydrobromid	50	20	148	40
	100	40	212	40-60
	200	40	253	40-60

4) Potenzierung narkotischer Wirkung.

Im Seitenlagetest an der Maus wurde die Inactin-Narkose (Inactin = 5-Aethyl-5-(1-methyl-propyl)-thiobarbitursäure) durch Alkaloid I um reichlich 100% verlängert. Scopolamin verlängerte die Narkosezeit kaum.

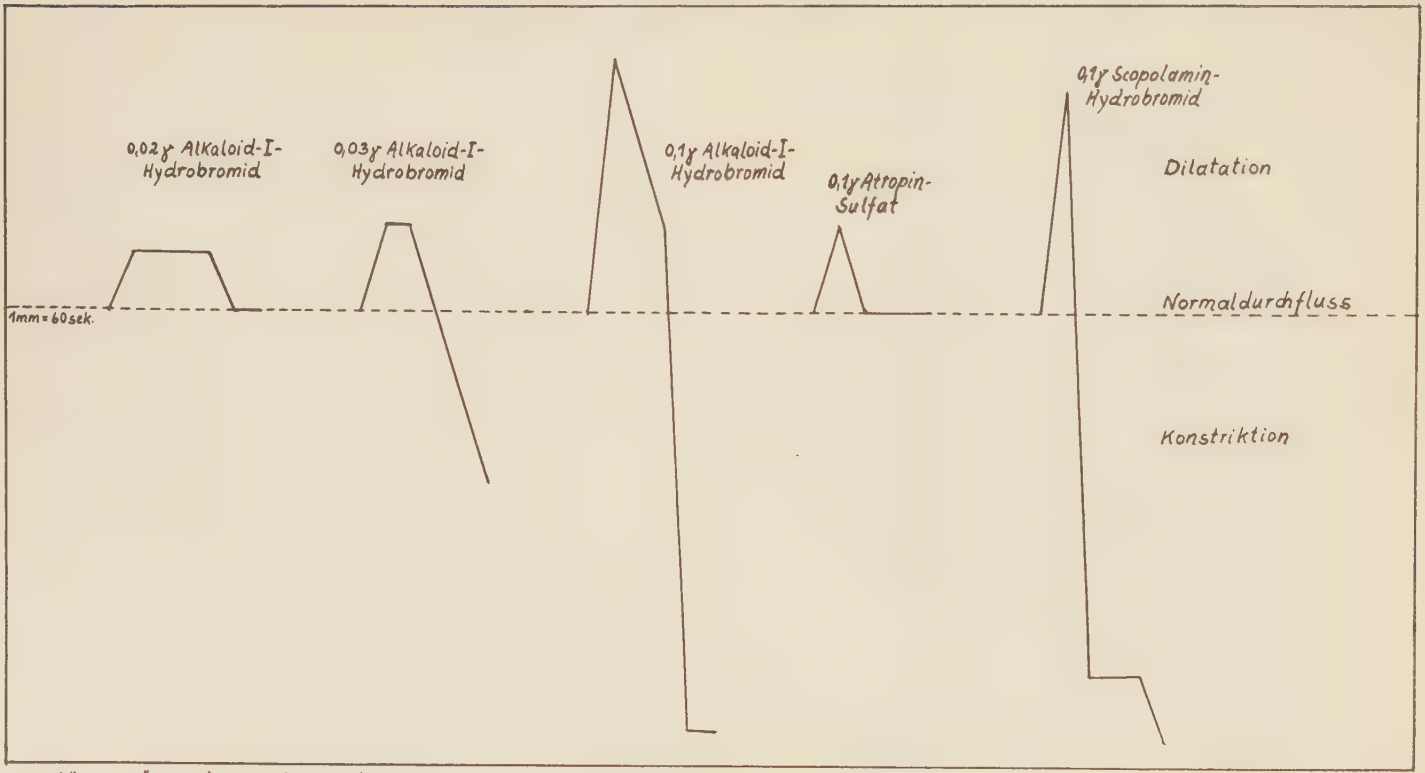
Tabelle Nr. 14

Substanz	Dosis mg/kg/sc.	Injektion 55 mg/kg Inactin ip. nach	Narkose-Dauer in Minuten	Anzahl der schlafenden Tiere in %
-	-	0 Min.	9,60	53,3
Scopolamin-Hydrobromid	10	30 Min.	10,67	73,4
Alkaloid-I-Hydrobromid	10	30 Min.	22,10	60,0

5) Wirkung auf das Gefäß-Präparat.

Am Kaltblüter zeigte Alkaloid I mit steigender Konzentration eine Gefäß-Erweiterung. Nach Abklingen der Gefäß-Erweiterung ist mit steigender Alkaloid-I-Menge eine zunehmende Gefäß-Konstriktion zu beobachten. 0,02γ Alkaloid-I-Hydrobromid gab bei guter Gefäß-Erweiterung noch keine Nachwirkung. Schon bei einer Menge von 0,03γ zeigte sich aber eine deutliche Nachwirkung in Form eines Gefäß-Spasmus, wobei aber noch nicht von einer entsprechenden Zunahme der Gefäß-Erweiterung gegenüber 0,02γ zu sprechen ist. Scopolamin verhielt sich wie Alkaloid I; Atropin aber, welches nur eine gewisse Gefäß-Erweiterung zeigte, hatte in diesen Konzentrationen keine Nachwirkung. (Vgl. Abbildung Nr. 3)

Abbildung Nr. 3.



Gefässpräparat am Wasserfrosch.

6) Wirkung auf das isolierte Kaltblüterherz.

In orientierenden Versuchen konnte gezeigt werden, daß Acetylcholin-Schäden durch Alkaloid I, Scopolamin und Atropin beseitigt wurden. Bei gleichzeitiger Applikation von Acetylcholin-Chlorid und Atropin-Sulfat (0,01γ) unterband dieses die Wirkung des Acetylcholins, während Alkaloid-I-Hydrobromid und Scopolamin-Hydrobromid auch in doppelter Dosis die Wirkung nur zu einem Teil hemmten.

Die Ergebnisse der pharmakologischen Untersuchungen des Alkaloid-I-Hydrobromids ließen erkennen, daß dieses Alkaloid auch pharmakologisch in die Gruppe der Tropaester einzuordnen ist.

C. Experimenteller Teil

I. Extraktion der Droge und Gewinnung des Rohalkaloidbasengemisches.

Die Extraktion wurde, mit einigen kleinen Aenderungen, nach der Vorschrift von R. Oberle (1) vorgenommen.

1) Extraktion mit Petroläther zur Entfernung des Samenöls .

Die in einer Gewürzmühle sehr fein gemahlene Droge (2836g) wird in kleinen Anteilen in ein Porzellanrohr (Länge: 150 cm; Durchmesser 8 cm) fest eingepreßt und dann mit 65 l Petroläther unter N_2 - Druck (0,5 atü) langsam extrahiert. Dieser Extrakt ergab nach Entfernung des Lösungsmittels 609 g einer öligen, stickstofffreien Flüssigkeit (Samenöl).

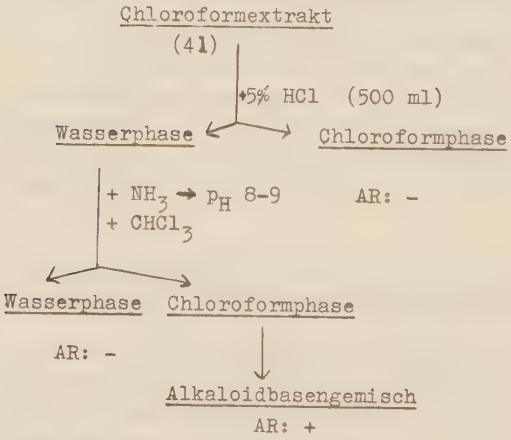
2) Extraktion der entfetteten Droge mit ammoniakalischem Chloroform zur Gewinnung des Rohalkaloidbasengemisches.

Das entfettete Drogenpulver wird anschließend mit 17 l ammoniakalischem Chloroform (ca. 3%ig) und dann mit weiteren 22 l reinem Chloroform ebenfalls unter N_2-Druck extrahiert. Die Extraktion der Droge mit reinem Chloroform war dann beendet, nachdem der Rückstand eines 2-Liter-Eluts nach Auflösen in verdünnter Salzsäure mit Mayers bzw. Dragendorffs Reagens nicht mehr fällbar war.

Die ersten 10 l des Chloroform-Extraktes werden getrennt von dem anschließend erhaltenen Extrakt aufgearbeitet, und zwar in der Weise, daß sie im Vakuum (Wasserbadtemperatur ca. 50°) auf etwa 4 l eingeengt und dann, entsprechend untenstehendem Schema Nr. 1, mit 5%iger Salzsäure ausgeschüttelt werden, wobei sich meist hartnäckige Emulsionen ergeben, die jedoch bei längerem Stehen auseinandergehen. Bei der analogen Aufarbeitung des restlichen Chloroform-Extraktes treten dann keine oder nur sehr schwache Emulsionen auf. Die salzsauren Ausschüttelungen der beiden Chloroform-Extrakte werden vereinigt, fil-

triert, unter Eiskühlung ammoniakalisch gemacht und dann mit Chloroform extrahiert. Der mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknete Chloroform-Extrakt hinterläßt nach Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum (Wasserbadtemperatur ca. 50°) dann das sogenannte Rohalkaloidbasengemisch (17,3g; 0,61% bezogen auf nicht entfettete Droge).

Schema Nr. 1



Abkürzungen:

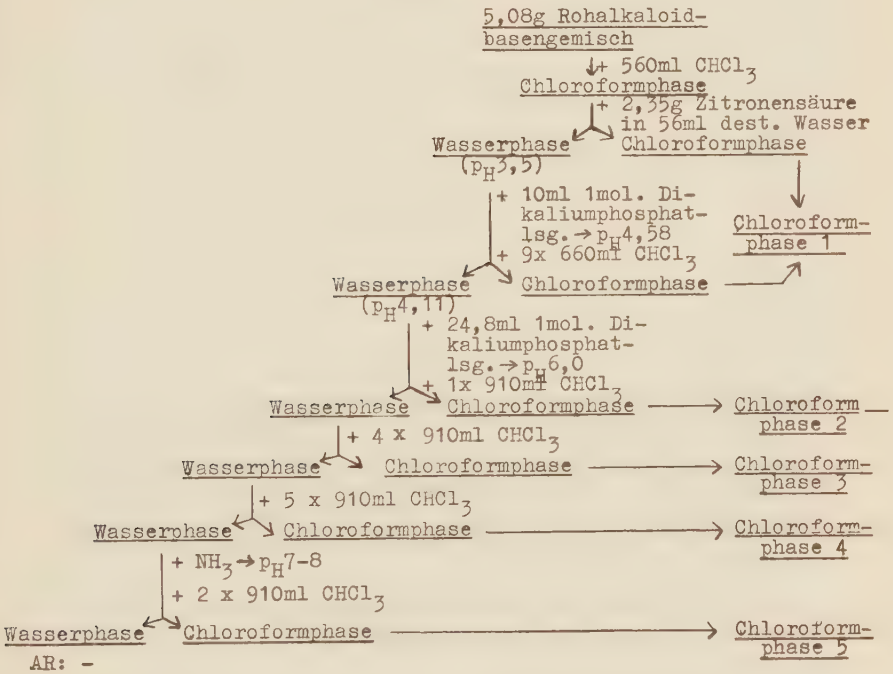
AR: Alkaloidfällungsreagenzien
\+ : positive Reaktion
\- : negative Reaktion

3) Anreicherung von Alkaloid I durch fraktioniertes Ausschütteln wäßriger gepufferter Rohalkaloidbasengemisch-Lösungen mit Chloroform bei verschiedenen p_H - Werten.

Die fraktionierte Extraktion wird entsprechend den in untenstehendem Schema Nr. 2 gemachten Angaben vorgenommen, wobei das Volumenverhältnis Chloroform:Wasserphase stets 10:1 betragen soll und jedesmal drei Minuten lang zu schütteln ist. Das zu verwendende Chloroform wird vorher mit Wasser gesättigt. Die Konzentration der Zitronensäurelösung wurde allgemein entsprechend der eingesetzten Menge an Rohalkaloidbasengemisch gewählt, und zwar erwies sich rein empirisch ein Verhältnis von 0,4633 g Zitronensäure: 11 ml Wasser: 1 g Rohalkaloidbasengemisch: 110 ml Chloroform als sehr vorteilhaft. Die Aufarbeitung

der Chloroformphasen erfolgt in der üblichen Weise (Trocknung mit Natriumsulfat, Entfernung des Lösungsmittels durch Destillation im Vakuum).

Schema Nr. 2



Abkürzungen und Erläuterungen :

AR: Alkaloidfällungsreagenzien
\+ : positive Reaktion
\- : negative Reaktion
p_H-Werte potentiometrisch (Glaselektrode: Jonotest-Lautenschläger)

Die Rückstände der einzelnen Chloroformphasen werden ausgewogen und papierchromatographiert. Die quantitativen Ergebnisse finden sich in nachstehender Tabelle:

Tabelle Nr. 15

Fraktion (Chloroformphasen)	Auswaage	Ausbeute (in %) (bezogen auf die Gesamtauswaage)
I	2,4006 g	46,11
II	1,3369 g	25,68
III	0,8966 g	17,22
IV	0,2742 g	5,27
V	0,2984 g	5,72
	5,2067 g	100,00

Bemerkung: Die Differenz zwischen der eingesetzten Menge Rohalkaloidbasengemisch und der wiedergewonnenen Alkaloidmenge (+ 2,2%) dürfte vor allem darauf zurückzuführen sein, daß der sirupöse Rückstand der einzelnen Chloroformphasen nur bei erhöhter Temperatur vollständig vom Lösungsmittel hätte befreit werden können. Die Anwendung höherer Temperaturen wurde jedoch, um jede Veränderung der Komponenten des Rohalkaloidbasengemisches auszuschließen, stets vermieden.

Die papierchromatographischen Ergebnisse sind in der Tabelle Nr. 1 (vgl. Seite 5) zusammengefaßt.

Versuchsbedingungen:

Lösungsmittelsystem: n -Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5)
Methode: aufsteigend
Papier : Schleicher & Schüll Nr. 2043 a.
Sprühreagenz: Dragendorffs Reagenz nach Thies und Reuther (2).

4) Vierstufige Craig-Verteilung des Rohalkaloidbasengemisches in dem Lösungsmittelsystem Chloroform-Zitronensäure-Phosphat-Puffer-Lösung bei p_H 5,5

Die vierstufige Verteilung des Rohalkaloidbasengemisches wird in vier Scheidetrichtern vorgenommen, wobei jeder Scheidetrichter die für die einzusetzende Rohalkaloidbasengemischmenge

erforderliche Zitronensäure enthalten muß, nämlich 0,4633 g Zitronensäure/ 1 g Rohalkaloidbasengemisch. Es ist dabei im einzelnen folgendermaßen vorzugehen:

Die erforderliche Pufferlösung wird in der Weise bereitet, daß, entsprechend der einzusetzenden Menge an Rohalkaloidbasengemisch (=29,8 g) zunächst 55,39 g Zitronensäure und 135,35 g Dikaliumphosphat in etwa 600 ml Wasser gelöst werden; durch Zusatz von 2molarer Dikaliumphosphatlösung (=20 ml) wird potentiometrisch genau auf p_H 5,5 eingestellt und dann mit Wasser auf ein Volumen von 640 ml aufgefüllt. Durch Schütteln des so hergestellten Zitronensäure-Phosphat-Puffers mit dem gleichen Volumen Chloroform sind die beiden Phasen gegenseitig bei Zimmertemperatur zu sättigen.

In vier Scheidetrichter werden dann je 160 ml Chloroform als stationäre Phase gegeben, im ersten Scheidetrichter werden 29,8 g Rohalkaloidbasengemisch gelöst und mit 160 ml Pufferlösung (mobile Phase) fünf Minuten lang geschüttelt. Nach Phasentrennung wird die Oberphase in den zweiten Scheidetrichter gegeben, der erste mit neuer Pufferlösung (160ml) beschickt, und beide wiederum fünf Minuten lang geschüttelt. Es wird nun in ganz analoger Weise weiter verfahren, bis sich am Schluß die ursprünglich erste Oberphase im letzten Scheidetrichter befindet. Nach Zusatz von überschüssiger Ammoniakflüssigkeit in jeden Scheidetrichter wird erneut geschüttelt, und der Chloroformphasenrückstand dann in bisher üblicher Weise quantitativ bestimmt und papierchromatographiert.

Folgende Tabelle zeigt die mengenmäßige Verteilung der eingesetzten Rohalkaloidbasengemischmenge über die vier Fraktionen:

Tabelle Nr. 16

Fraktion	Auswaage	Ausbeute(in %) (bezogen auf die Gesamtauswaage)
0	4,7021 g	16,25
1	8,5837 g	29,65
2	8,2862 g	28,62
3	7,3778 g	25,48
	28,9498 g	100,00

Bemerkung: Zur Differenz zwischen der eingesetzten Menge Rohalkaloidbasengemisch und der wiedergewonnenen Alkaloidmenge vgl. die Bemerkung zu Tabelle Nr.15 auf Seite 51.

Die papierchromatographischen Ergebnisse sind in der Tabelle Nr. 2 (vgl. Seite 6) zusammengefaßt.

Versuchsbedingungen:

Lösungsmittelsystem: n-Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5).
Methode: aufsteigend.
Papier: Schleicher & Schüll Nr. 2043 a.
Sprühreagenz: Dragendorffs Reagenz nach Thies und Reuther (2)

5) 26-stufige Craig-Verteilung eines an Alkaloid I angereicherten Basen-Gemisches in dem Lösungsmittelsystem Chloroform-Zitronensäure-Phosphat-Puffer-Lösung bei p_H 5,5 .

Das mengenmäßige Verhältnis von Zitronensäure zu Alkaloidbasengemisch wird auch hier in der bisher üblichen Weise gewählt (vgl. Seite 49). Das Volumen der stationären Chloroformphase ist bei Verwendung der Verteilungsapparatur nach Hecker[1] mit 50 ml festgelegt, während das der mobilen Phase (Pufferlösung) sich nach der eingesetzten Menge an Basengemisch richtet und maximal 50 ml betragen kann.

Für die Pufferlösung werden entsprechend der Versuchsmenge von 3,07g Basengemisch (=Fraktion 2; vgl. Seite 52) 36,99 g Zitronensäure und 86,17g Dikaliumphosphat in etwa 350 ml Wasser gelöst. Diese Lösung zeigt einen p_H-Wert von 5,48, sie wird mit Wasser auf ein Volumen von 390 ml aufgefüllt und anschließend mit 1300 ml Chloroform zur gegenseitigen Sättigung bei Zimmertemperatur geschüttelt. Die Menge Pufferlösung ist so gewählt, daß bei Element 0 26 Zusätze zu je 15 ml Pufferlösung vorgenommen werden können.

Jedes Element der Verteilungsapparatur wird mit 50 ml Chloroform beschickt, im Element 0 werden 3,07 g Basengemisch gelöst und 15 ml Pufferlösung hinzugegeben. Nach drei Minuten langem Schütteln erfolgt in üblicher Weise Phasentrennung.

---

[1] Hersteller: Edmund Bühler, Tübingen

Element 0 wird dann mit neuer Oberphase (15ml) beschickt, und ein neuer Verteilungsschritt eingeleitet. Es wird in analoger Weise weiterverfahren, bis die erste Oberphase im letzten Element (25) angelangt ist. Sämtliche Oberphasen werden dann schwach ammoniakalisch gemacht (p_H7-8), nochmals drei Minuten mit den zugehörigen Unterphasen gegengeschüttelt, die einzelnen Chloroformphasen abgetrennt und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum resultierten die Fraktionen 0—25, die ausgewogen und papierchromatographisch untersucht wurden. Die mengenmäßige Verteilung des eingesetzten Basengemisches über die einzelnen Fraktionen ist in folgender Tabelle zusammengestellt:

Tabelle Nr. 17

Fraktion	Auswaage (g)	Fraktion	Auswaage (g)
0	0,0299	13	0,1265
1	0,0209	14	0,0922
2	0,0128	15	0,0648
3	0,0126	16	0,0557
4	0,0122	17	0,0464
5	0,0362	18	0,0665
6	0,0494	19	0,1043
7	0,0936	20	0,1794
8	0,1572	21	0,2103
9	0,2181	22	0,1945
10	0,2210	23	0,1643
11	0,2089	24	0,1059
12	0,1554	25	0,0816

Die papierchromatographischen Ergebnisse sind bereits in Verbindung mit der Verteilungskurve auf Seite 9 wiedergegeben.

Versuchsbedingungen:
Lösungsmittelsystem: n-Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5).
Methode: absteigend.
Papier: Schleicher & Schüll Nr. 2043 a.
Sprühreagenz: Dragendorffs Reagenz nach Thies und Reuther (2).

6) 26-stufige Craig-Verteilung eines an Alkaloid I stark angereicherten Basengemisches in dem Lösungsmittelsystem Chloroform-Zitronensäure-Phosphat-Puffer-Lösung bei p_H 6,1

Die Verteilung und die anschließende Aufarbeitung des Inhaltes der einzelnen Elemente wird analog der Verteilung bei p_H 5,5 vorgenommen (vgl. Seite 53).

Bei einer Versuchsmenge von 1.23 g Basengemisch werden zur Herstellung der Pufferlösung 14,82 g Zitronensäure und 50,64 g Dikaliumphosphat in etwa 350 ml Wasser gelöst, und mit Wasser auf ein Volumen von 390 ml aufgefüllt, das als mobile Phase zu je 15 ml für 26 Elemente ausreicht. Der p_H-Wert dieser Lösung liegt bei 6.1. Die Pufferlösung und 1300 ml Chloroform werden dann durch Schütteln bei Zimmertemperatur gegenseitig gesättigt.

Die quantitative Auswertung der gewonnenen Fraktionen 0-25 zeigt folgende Tabelle:

Tabelle Nr. 18

Fraktion	Auswaage (g)	Fraktion	Auswaage (g)
0	0,0339	13	0,0753
1	0,0185	14	0,1291
2	0,0065	15	0,1466
3	0,0063	16	0,1488
4	0,0037	17	0,1392
5	0,0059	18	0,0987
6	0,0044	19	0,0772
7	0,0058	20	0,0498
8	0,0145	21	0,0344
9	0,0164	22	0,0201
10	0,0102	23	0,0129
11	0,0227	24	0,0106
12	0,0386	25	0,0032

Die papierchromatographischen Ergebnisse sind bereits in Verbindung mit der Verteilungskurve schematisch auf Seite 11 wiedergegeben.

Versuchsbedingungen:

Lösungsmittelsystem: n-Butanol-Eisessig-Wasser (4 :1: 5).

Methode: aufsteigend.

Papier: Schleicher & Schüll Nr. 2043 a.

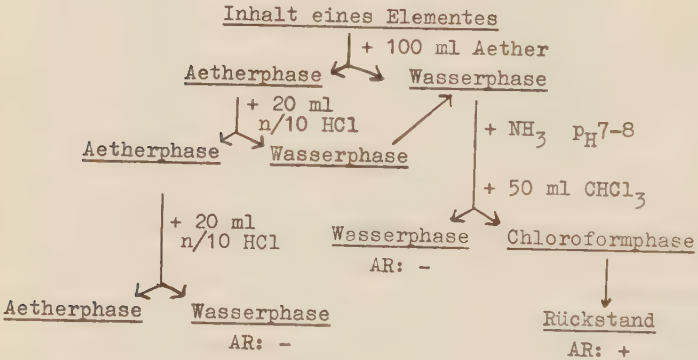
Sprühreagenz: Dragendorffs Reagenz nach Thies und Reuther (2).

7) 26-stufige Craig-Verteilung eines Basen-Gemisches in dem Lösungsmittelsystem n-Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5).

Zur Durchführung der Verteilung wird zunächst eine größere Menge n-Butanol-Eisessig-Wasser im Verhältnis 4:1:5 in einem Scheidetrichter bei Zimmertemperatur geschüttelt und zur Phasentrennung beiseite gestellt. Nach Phasentrennung werden in jedes Element der Verteilungsapparatur 50 ml Unterphase als stationäre Phase gegeben, und in der Unterphase von Element 0 das zu verteilende Basengemisch (1,12g; = Rückstand aus den Elementen 17-25 von Versuch Seite 55/56)gelöst. Die mobile Phase beträgt hier ebenfalls 50 ml, die Schüttelzeit fünf Minuten. Der Verteilungsvorgang erfolgt in der bereits beschriebenen Weise, jedoch erwies es sich als notwendig, den

Inhalt der einzelnen Elemente anders als bisher aufzuarbeiten, d. h. die Basenanteile müssen aus dem höher siedenden n-Butanol entsprechend nachfolgendem Schema in leicht abzudestillierendes Chloroform übergeführt werden. Die resultierende Chloroformlösung wird nach Trocknung in der bisher üblichen Weise aufgearbeitet, der Rückstand ausgewogen und papierchromatographiert.

Schema Nr. 3



Abkürzungen:
AR: Alkaloidfällungsreagenzien
+ : positive Reaktion
- : negative Reaktion

Tabelle Nr. 19

Fraktion	Auswaage (g)	Fraktion	Auswaage (g)
0	0,0013	13	0,0165
1	0,0082	14	0,0108
2	0,0277	15	0,0085
3	0,0735	16	0,0034
4	0,1117	17	0,0027
5	0,1651	18	0,0017
6	0,1924	19	0,0016
7	0,1784	20	-
8	0,1327	21	-
9	0,0757	22	-
10	0,0500	23	-
11	0,0286	24	-
12	0,0210	25	-

Die papierchromatographischen Ergebnisse sind bereits in Verbindung mit der Verteilungskurve schematisch auf Seite 13 wiedergegeben.

Versuchsbedingungen:
Lösungsmittelsystem: n-Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5).
Methode: aufsteigend.
Papier: Schleicher & Schüll Nr. 2043 a.
Sprühreagenz: Dragendorffs Reagenz nach Thies und Reuther (2).

II. Charakterisierung von Alkaloid I.

1) Allgemeine Bemerkungen:

Sämtliche Schmelzpunkte wurden mit dem Kofler-Schmelzpunktbestimmungsapparat ermittelt.

Die Mikroanalysen wurden im mikroanalytischen Laboratorium Dr. Pascher, Bonn, durchgeführt.

Die optische Aktivität wurde mit dem Polarisationsapparat nach Lippich der Firma Zeiss-Winkel, Göttingen, unter Verwendung eines 2-dm-Rohres bestimmt.

Die UV-Spektren wurden in einer 1-cm-Quarzküvette mit dem Zeiss-Spektrophotometer PMQ II aufgenommen.

Die IR-Spektren wurden im Organisch-chemischen Institut der Universität Mainz mit einem Perkin-Elmer-Gerät aufgenommen.

2) Alkaloid-I-Hydrobromid vom Schmelzpunkt 198-199°.

4,05 g Alkaloid-I-Base, die äußerst geringe Mengen an Atropin Scopolin enthalten, werden unter gelindem Erwärmen in 15 ml absolutem Aethanol gelöst, und diese Lösung mit 300 ml absolutem Aether versetzt. Unter Feuchtigkeitsausschluß wird so viel bromwasserstoffhaltiger Aether tropfenweise zugegeben (Bromwasserstoff dargestellt aus Tetralin und Brom), bis ein weiterer Zusatz von bromwasserstoffhaltigem Aether keine neue Fällung mehr hervorruft. Der weiße, amorphe, hygroskopische Niederschlag wird mit einer Glasfritte unter trockener Stickstoffatmosphäre abgenutscht, mit absolutem Aether nachgewaschen und im Vakuumexsikkator über konzentrierter Schwefelsäure und Natriumhydroxyd getrocknet. Das amorphe Alkaloid-I-Hydrobromid wird dann aus Isopropanol kristallisiert.
Das feinkristalline weiße Produkt ist papierchromatographisch rein, während die Alkaloidverunreinigungen des Ausgangsmaterials in der Mutterlauge zurückbleiben. Nach der Trocknung im Vakuum über konzentrierter Schwefelsäure

schmilzt das Alkaloid-I-Hydrobromid bei 198-99° (Braunfärbung). Die Ausbeute an kristallinem Alkaloid-I-Hydrobromid betrug 1,22 g (24% d. Th.).

Elementaranalyse von Alkaloid-I-Hydrobromid:
Trocknung: 60 Minuten/100°/15 Torr. Gewichtsverlust: 0,63%.
Einwaage: 2,974mg; 5,511mg CO_2; 1,497mg H_2O.
Einwaage: 3,012mg; 738mm Hg; 24,5°C; 0,094ccm N_2.
Einwaage: 3,300mg; 8,42ccm 0,01n $AgNO_3$-Lösung.
Alkaloid-I-Hydrobromid: $C_{17}H_{22}BrNO_5$ (MG. 400,272).

	C%	H%	Br%	N%	O%
ber.:	50,57	5,63	20,39	3,48	19,93
gef.:	51,01	5,54	19,96	3,50	(19,99)

Methoxylbestimmung von Alkaloid-I-Hydrobromid:

Trocknung: 60 Minuten/100°/15 Torr. Gewichtsverlust: 0,63%.
Einwaage: 6,134mg; Verbrauch: 0 ml 0,02n $Na_2S_2O_3$-Lösung.
gef.: 0%.

N-Methylbestimmung von Alkaloid-I-Hydrobromid:

Trocknung: 60 Minuten/100°/15 Torr. Gewichtsverlust: 0,63%.
Einwaage: 6,134mg; Verbrauch: 4,35ml 0,02n $Na_2S_2O_3$-Lösung.
ber.: 3,75% (→1 N-CH_3).
gef.: 3,55% (→0,95 N-CH_3).

Die papierchromatographischen Ergebnisse sind bereits in der Tabelle Nr.3 (vgl. Seite 16) zusammengefaßt.

Versuchsbedingungen:
Lösungsmittelsystem: n-Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5).
Methode: aufsteigend.
Papier: Schleicher & Schüll Nr. 2043a.
Temperatur: 15°.
Sprühreagenz: Dragendorffs Reagenz nach Thies und Reuther (2).

3) Alkaloid-I-Hydrobromid vom Schmelzpunkt 116-118°.

Die niedrig schmelzende Form wird dann erhalten, wenn man die höherschmelzende in Wasser löst und die wäßrige Lösung im Vakuumexsikkator zur Kristallisation einengt (Schmelzpunkt 116-18°).

Elementaranalyse:

Einwaage: 2,888mg; 5,132mg CO_2; 1,483mg H_2O.
Alkaloid-I-Hydrobromid·H_2O: $C_{17}H_{24}BrNO_6$ (MG. 418,288).

	C%	H%
ber.:	48,80	5,54
gef.:	48,49	5,74

III. Strukturaufklärung von Alkaloid I.

1) Hydrolyse von Alkaloid-I-Hydrobromid:

a) Wäßrige Hydrolyse von Alkaloid-I-Hydrobromid mit einem schwach basischen Ionenaustauscher:

Zu einer Lösung von 1g Alkaloid-I-Hydrobromid in 60 ml Wasser und 10 ml absolutem Aethanol werden 15 g feuchter, schwach basischer Ionenaustauscher Permutit E[1] gegeben. Nach 14stündigem Kochen unter Rückfluß wird der Ionenaustauscher durch die gleiche Menge neuen ersetzt, und nochmals 14 Stunden zum Sieden erhitzt. Die vom Ionenaustauscher befreite Lösung wird dann über Kohle filtriert, im Vakuum stark eingeengt, und dann schließlich das restliche Wasser im Vakuumexsikkator über konzentrierter Schwefelsäure entfernt. Der Rückstand wird mehrmals mit absolutem Aethanol digeriert, und die äthanolische Lösung im Vakuum zur Trockene eingedampft. Hierbei blieb die Alkaminkomponente (332mg; 85,6% d.Th.) als leicht gelblicher Sirup zurück; sie ist papierchromatographisch einheitlich.

332mg Rohalkamin werden unter gelindem Erwärmen in 10ml absolutem Aethanol gelöst, und diese Lösung mit 200 ml absolutem Aether versetzt. Unter Feuchtigkeitsausschluß wird soviel bromwasserstoffhaltiger Aether tropfenweise zugegeben, bis ein weiterer Bromwasserstoff-Zusatz keine Fällung mehr entstehen läßt. Das in kristalliner Form ausgefallene Hydrobromid wird zweimal aus absolutem Aethanol/Diisopropyläther umkristallisiert (Ausbeute 114mg; 22,6%); es kristallisiert in Würfeln bzw. Tafeln vom Schmelzpunkt 279-80° (Zers.; unkorr.).

---

[1] Herstellerfirma: Permutit AG, Berlin.
Der Ionenaustauscher wurde zur Reinigung 72 Stunden mit Wasser ausgekocht, das nach jeweils 24 Stunden erneuert wurde.

Elementaranalyse des Alkamin-Hydrobromids von Alkaloid I:

Trocknung: 15 Minuten/100°/ 15 Torr. Gewichtsverlust: 0%.
Einwaage: 2,567mg; 3,801mg CO_2; 1,389mg H_2O.
Einwaage: 1,970mg; 746 mmHg; 26,9°C; 0,106ccm N_2.
Einwaage: 3,420mg; 1,415ccm 0,01 n $AgNO_3$-Lösung.
Alkamin-Hydrobromid: $C_8H_{14}BrNO_2$ (MG.236,117).

	C%	H%	Br%	N%	O%
ber.:	40,41	6,05	6,01	33,07	14,46
gef.:	40,69	5,98	5,93	33,85	(13,55)

Die papierchromatographischen Ergebnisse sind bereits in der Tabelle Nr.4 (vgl. Seite 23) zusammengefaßt.

Versuchsbedingungen:

Lösungsmittelsystem: n-Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5).
Methode: aufsteigend.
Papier: Schleicher & Schüll Nr. 2043a.
Temperatur: 16°.
Sprühreagenz: Dragendorffs Reagenz nach Thies und Reutner (2).

Obiger Ionenaustauscher wird anschließend mit 4%iger Natronlauge in der Kälte extrahiert, die Lösung mit 2n-Schwefelsäure auf p_H 8 eingestellt und im Vakuum bis auf etwa 250ml eingeengt. Nach starkem Ansäuern mit 2n-Schwefelsäure wird zwölfmal mit je 100 ml Aether extrahiert. Die Aetherphasen werden vereinigt, mit Natriumsulfat getrocknet und nach Filtration vom Lösungsmittel im Vakuum befreit; hierbei blieben 393,3mg (86,4% d.Th.) Säurekomponente in Form feiner weißer Kristalle zurück. Durch Umkristalisation aus Toluol oder Essigester wird sie in analysenreiner Form vom Schmelzpunkt 124-26° erhalten.

Elementaranalyse der Säurekomponente von Alkaloid I:

Trocknung: 30 Minuten/78°/15 Torr. Gewichtsverlust: 0%.
Einwaage: 2,341mg; 5,103mg CO_2; 1,163mg H_2O.
Einwaage: 3,076mg; 8,10ccm 0,02n $Na_2S_2O_3$-Lösung.
Säurekomponente: $C_9H_{10}O_4$ (MG. 182,179).

	C%	H%	O%
ber.:	59,34	5,53	35,13
gef.:	59,49	5,56	35,10

Bestimmung des aktiven Wasserstoffs der Säurekomponente von Alkaloid I:

Trocknung: 30 Minuten/78°/15 Torr. Gewichtsverlust: 0%.
Einwaage: 3,784mg; gelöst in 1,00ccm Anisol; bei 748 mm Hg und 27,0°C: 1,67ccm CH_4; nach 10 Min. bei 90°C: keine weitere CH_4-Entwicklung.

ber.: 1,660% H^* (→ 3,00 H^*).
gef.: 1,781% H^* (→ 3,22 H^*).

Die papierchromatographischen Ergebnisse sind bereits in den Tabellen Nr.7,8 und 9 (vgl. S.30,31 u. 36) zusammengefaßt.

Versuchsbedingungen (Tabelle Nr. 7):

Lösungsmittelsystem: n-Butanol-5n Ammoniakflüssigkeit (1:1); nach A. Jindra, S. Zadražil und S. Černá (10).
Papier: Schleicher & Schüll Nr. 2043a.
Temperatur: 16,3 - 16,5°.
Sprühreagenz: Oxychinolinsulfat/Zinksulfat; nach M. Pesez und J. Ferrero (5).

Versuchsbedingungen (Tabelle Nr.8):

Lösungsmittelsystem: Benzoesäureäthylester-Propanol-Ameisensäure (4:6:2), mit Wasser eben gesättigt; nach R.J. Cheftel, R. Munier und M. Macheboeuf (11).

Methode: aufsteigend.

Papier: Schleicher & Schüll Nr. 2043a.

Temperatur: 15,5°.

Sprühreagenz: Chinidin/Chloroform; nach E. Merck (6).

Versuchsbedingungen (Tabelle Nr. 9):

Lösungsmittelsystem: n-Butanol-5n-Ammoniakflüssigkeit (1:1); nach A. Jindra, S. Zadražil und S. Černá (10).

Methode: aufsteigend.

Papier: Schleicher & Schüll Nr. 2043a.

Temperatur: 18,2-19°.

Sprühreagenz: Oxychinolinsulfat / Zinksulfat; nach M. Pesez und J. Ferrero (5).

b) Hydrolyse von Alkaloid-I-Hydrobromid mit verdünnter Kalilauge.

1g Alkaloid-I-Hydrobromid wird eine Stunde mit 50 ml 10%iger wäßriger Kalilauge unter Rückfluß gekocht, und das Reaktionsgemisch dreimal mit je 50 ml Chloroform extrahiert. Die vereinigten Chloroformphasen werden in üblicher Weise getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Der gelbliche, sirupöse Rückstand (348mg; 89,8% d.Th.) erstarrt beim Aufbewahren im Vakuumexsikkator allmählich zu gelblichweißen, hygroskopischen, eisblumenartigen Kristallen vom Schmelzpunkt 104-06° (unkorr.).

Die extrahierte alkalisch-wäßrige Lösung wird nach dem starken Ansäuern mit 2n-Schwefelsäure zwölfmal mit je 100 ml Aether ausgeschüttelt. Die vereinigten Aetherausschüttelungen hinterlassen nach üblicher Trocknung und Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum ein feinkristallines Produkt (420mg; 92,2% d.Th.).

Die weitere Aufarbeitung der beiden Hydrolyseprodukte analog den vorher gemachten Angaben führte zu den gleichen Produkten, wie sie bei der wäßrigen Hydrolyse mit Ionenaustauscher erhalten werden.

2) Alkalische Hydrolyse von Alkaloid-I-Methoxymethochlorid.

4,11g Alkaloid-I-Base werden analog einer Vorschrift von J. Meinwald und O.L.Chapman (3) in das Methoxymethochlorid übergeführt und dann mit wäßriger Bariumhydroxydlösung hydrolysiert. Nach Spaltung des Hydrolyseproduktes mit 2n-Schwefelsäure wird ein klarer viskoser Sirup erhalten, der während der Trocknung im Vakuumexsikkator über konzentrierter Schwefelsäure zu hygroskopischen Kristallen erstarrt. Die Ausbeute betrug 657 mg.

Das Hydrolyseprodukt (657 mg) wird in 8 ml absolutem Aethanol gelöst und bei 0° mit 4 ml Methylbromid versetzt. Nach längerem Stehen bei 0° und unter Luft- und Feuchtigkeitsausschluß scheidet sich dann das Methobromid ab, das aus absolutem Aethanol in fiederartigen Nadeln vom Schmelzpunkt 288-89° (Zers.; unkorr.) kristallisiert: 198 mg; 18,7% d.Th.

3) Versuche zur Razemisierung des optisch aktiven sauren Hydrolyseprodukts von Alkaloid I.

a) Versuch zur Razemisierung durch Chlorierung mit Thionylchlorid und nachfolgende Enthalogenierung mit Silberoxyd.

100 mg Säure wurden zwei Stunden lang mit 30 ml Thionylchlorid unter Rückfluß gekocht, letzteres im Vakuum entfernt, und der Rückstand analog einer Vorschrift von A. Kerr (8) mit Silberoxyd behandelt. Nach der Aufarbeitung resultierte eine sehr geringe Menge eines hellgelben, dünnflüssigen Oels, das sauer reagierte und halogenfrei war (Beilsteinprobe). Trotz Behandelns mit verschiedenen Lösungsmitteln gelang es nicht, ein kristallines Produkt darzustellen.

b) Versuch zur Razemisierung durch Kochen mit Alkali

455 mg Säurekomponente wurden zwei Stunden lang mit 50 ml 20%iger wäßriger Natronlauge unter Rückfluß gekocht. Das Reaktionsgemisch wurde dann mit 2 n-Schwefelsaure stark angesäuert und zwölfmal mit 100 ml Aether extrahiert. Die vereinigten Aetherphasen wurden mit Natriumsulfat getrocknet und nach dem Filtrieren im Vakuum vom Lösungsmittel vollständig befreit. Der dabei resultierende Rückstand wurde zur Entfernung schmieriger Anteile mit Chloroform digeriert und ergab schließlich 226 mg eines Produktes vom Schmelzpunkt 128-29°, das mit dem Ausgangsmaterial identisch war.

c) Versuch zur Razemisierung durch Kochen mit 3n-Salzsäure

209 mg Säurekomponente vom Schmelzpunkt 128-29° werden vier Stunden lang mit 50 ml 3n-Salzsäure unter Rückfluß gekocht. Die Lösung wird dann mit 50 ml Wasser verdünnt und zwölfmal mit 100 ml Aether extrahiert. Die vereinigten Aetherausschüttelungen werden in üblicher Weise mit Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel wird im Vakuum vollständig abdestilliert, und der Rückstand mit Chloroform digeriert. Dabei wird ein kristallines Produkt erhalten (40mg), das aus Essigester in drusenförmig angeordneten Kristallprismen vom Schmelzpunkt 147-48° kristallisiert. Der Mischschmelzpunkt mit synthetisch hergestellter α- Phenylglycerinsäure (vgl. Seite 70) zeigte keine Depression.

4) Oxydativer Abbau des sauren Hydrolyseprodukts von Alkaloid I.

100 mg Säurekomponente werden in 5-10 ml Wasser gelöst, und die Lösung durch Zugabe von Natriumbikarbonat ganz schwach alkalisch gemacht. Unter Erhitzen wird nun solange tropfenweise gesättigte Kaliumpermanganat-Lösung zugesetzt, bis keine Entfärbung mehr eintritt. Das überschüssige Kalium-

permanganat wird mit Wasserstoffsuperoxyd entfernt, der entstandene Braunstein abfiltriert und mehrmals mit wenig heißem Wasser nachgewaschen. Das Filtrat wird mit 2n-Schwefelsäure stark angesäuert und sechsmal mit 80ml Aether extrahiert. Nach üblicher Trocknung der vereinigten Aetherphasen wird das Lösungsmittel abdestilliert; es bleibt ein blaßgelb gefärbtes, teilweise kristallines Produkt (65mg) zurück, das im Vakuum sublimierbar ist (95°/15 Torr) und dabei Nädelchen und Blättchen vom Schmelzpunkt 112-15° (unkorr.) bildet. Eine nochmalige Vakuumsublimation führt zu einem Produkt vom Schmelzpunkt 118-19° (unkorr.), der Mischschmelzpunkt mit Benzoesäure zeigte keine Depression.

IV. Herstellung von Vergleichssubstanzen.

1) Atropin-Hydrobromid.

800 mg Atropin-Base "Merck" werden in absolutem Aether gelöst und tropfenweise unter Luftabschluß mit bromwasserstoffhaltigem Aether im Ueberschuß versetzt. Der weiße bis grüngelbe, amorphe, hygroskopische Niederschlag wird unter Ausschluß von Luftfeuchtigkeit abgenutscht, mit absolutem Aether gewaschen und im Vakuum über konzentrierter Schwefelsäure und Natriumhydroxyd getrocknet. Der trockene Niederschlag wird dann unter Erwärmen in wenig Isopropanol gelöst und im Vakuum vollständig zur Trockene gebracht, wobei 800 mg Atropin-Hydrobromid vom Schmelzpunkt 160-61° resultieren. Durch Umkristallisation aus absolutem Aethanol / Diisopropyläther wird Atropin-Hydrobromid in sternförmig angeordneten Kristallen vom Schmelzpunkt 160° erhalten.

2) Scopolin-Hydrobromid und Scopolin-Methobromid.

1,3 g Scopolamin-Hydrobromid "Merck" werden in 50 ml 10%iger wäßriger Kalilauge eine Stunde lang unter Rückfluß gekocht. Nach dem Erkalten wird die Reaktionslösung dreimal mit je 50 ml Chloroform ausgeschüttelt, die vereinigten Chloroformphasen werden nach Trocknung mit Natriumsulfat vom Lösungsmittel befreit. Als Rückstand werden 431 mg (82,1% d. Th.) Scopolin in Form eines leicht gelblichen Sirups erhalten. Die Vollständigkeit der Hydrolyse wurde papierchromatographisch nachgewiesen.

a) Herstellung von Scopolin-Hydrobromid.

431mg Scopolin-Base werden in 5-10 ml absolutem Aethanol gelöst, die Lösung mit absolutem Aether auf etwa 150 ml verdünnt und dann unter Ausschluß von Luftfeuchtigkeit solange tropfenweise mit bromwasserstoffhaltigem Aether versetzt, bis keine Fällung mehr eintritt. Das kristalline Scopolin-Hydrobromid wird abgenutscht, mit wenig absolutem Aether gewaschen und im Vakuumexsikkator getrocknet. Die Ausbeute betrug 580 mg (88,5% d. Th.). Das Hydrobromid kristallisiert aus absolutem Aethanol / Diisopropyläther in feinen weißen Nadeln vom Schmelzpunkt 275° (Zers.;unkorr.)

b) Herstellung von Scopolin-Methobromid.

255 mg Scopolin-Base werden in 4 ml absolutem Aethanol gelöst und bei 0° mit 2 ml Methylbromid versetzt. Nach 20stündigem Stehen bei 0° werden die ausgefallenen Kristalle abgenutscht, im Vakuumexsikkator getrocknet und aus absolutem Aethanol umkristallisiert. Die Ausbeute betrug 70 mg (17% d. Th.). Scopolin-Methobromid kristallisiert in derben Würfeln vom Schmelzpunkt 298-99° (Zers.; unkorr.).

3) Scopin-Methobromid.

9,33 g Scopolamin-Hydrobromid "Merck" werden in 50 ml Wasser gelöst, die Lösung ammoniakalisch gemacht und dreimal mit dem gleichen Volumen Chloroform ausgeschüttelt. Die vereinigten Chloroformausschüttelungen werden nach dem Trocknen mit Natriumsulfat vom Lösungsmittel befreit, wobei 4,72 g Scopolamin-Base als gelblicher klarer Sirup zurückbleiben. Dieses sirupöse Produkt wird nach einer Vorschrift von J. Meinwald und O. L. Chapman (3) hydrolysiert, wobei 880 mg Scopin als klarer viskoser Sirup anfallen, der im Vakuumexsikkator über konzentrierter Schwefelsäure zu hygroskopischen Nadeln kristallisiert.

646 mg Scopin werden in 6,5 ml absolutem Aethanol gelöst, und die Lösung bei 0° mit 3 ml Methylbromid versetzt. Nach 20stündigem Stehen bei 0° wird der kristalline Niederschlag abgenutscht, im Vakuum getrocknet und aus absolutem Aethanol umkristallisiert . Das Scopin-Methobromid kristallisiert in gefiederten Nadeln vom Schmelzpunkt 291-92° (Zers.; unkorr.), die Ausbeute betrug 129 mg (12,4% d. Th.).

4) DL -α- Phenylglycerinsäure.

Razemische α- Phenylglycerinsäure wird nach W.C. Craig und H.R. Henze (12 und 13) hergestellt. Die Darstellung des als Ausgangssubstanz erforderlichen ω- Bromacetophenon erfolgt nach einer Vorschrift von R. Möhlau (14), die des ω- Acetoxyacetophenon nach einer Arbeit von G.R. Cebrián (15).

DL - α- Phenylglycerinsäure kristallisiert aus Toluol in feinen verfilzten Nadeln, aus Essigester in drusenförmig angeordneten Prismen. Der Schmelzpunkt liegt in jedem Fall bei 147-48°.

5) Versuche zur Razemattrennung der DL -α- Phenylglycerinsäure.

a) Razemattrennung durch Salzbildung mittels optisch aktiven Basen.

Grundlegend für eine Spaltung der razemischen α-Phenylglycerinsäure in ihre optisch aktiven Komponenten waren die Ausführungen in "Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie" (16). Zur Verwendung gelangten die optisch aktiven Basen Strychnin, Brucin, Chinin, Chinidin, Cinchonin und Ephedrin, als Lösungsmittel dienten Aethanol, Wasser, Gemische von Aethanol und Wasser, Isopropanol, Aceton, Essigester. Die Versuche wurden in allgemeinen nach folgendem Verfahren durchgeführt:

α-Phenylglycerinsäure wurde in einer bestimmten Menge des jeweiligen Lösungsmittels in der Hitze gelöst, dann eine äquimolekulare Menge fein gepulverter Base in Anteilen zugegeben, und weiter erhitzt, bis eine klare Lösung entstand. Diese wurde entweder bei Zimmertemperatur oder im Eisschrank stehen gelassen, oder vorsichtig im Vakuumexsikkator eingeengt. Hatte sich ein kristalliner Niederschlag gebildet, so wurde dieser abgenutscht, mit dem Lösungsmittel gewaschen, getrocknet und gewogen. Betrug er weit mehr als 50% der eingesetzten Substanzen, so wurde er von der weiteren Verarbeitung ausgeschlossen. Im anderen Falle wurde der Niederschlag in Wasser gelöst, die Lösung mineralsauer gemacht, und die α-Phenylglycerinsäure mit Aether ausgeschüttelt. Die Aetherphase wurde mit Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen, und der Schmelzpunkt der resultierenden Säure bestimmt. Zeigte dieser auch nur die geringste Abweichung von dem des Ausgangsproduktes, so wurde zusätzlich noch die optische Drehung ermittelt. Obwohl sämtliche obengenannten Basen und unterschiedliche Lösungsmittelkombinationen in die Versuche einbezogen wurden, bahnte sich nicht die geringste Razemattrennung an.

b) Razemattrennung mittels Adsorptionschromatographie.

Nachdem sich eine Trennung der α-Phenylglycerinsäure in ihre Antipoden entsprechend einer Arbeit von W. Mayer und F. Merger (7) in analogen orientierenden papierchromatographischen Vorversuchen nicht anbahnte, konnte auf einen Trennversuch mit einer Cellulosepulversäule verzichtet werden.

V. Pharmakologische Untersuchung von Alkaloid-I-Hydrobromid.

1) Spasmolytische Wirkung.

Es wurde die Methode von R. Magnus (17) zur Untersuchung am isolierten Darm durchgeführt. Registriert wurde die Kontraktion der Längsmuskulatur des Meerschweinchendünndarms. Es wurden männliche Tiere im Gewicht von 250-300 g verwendet. Als Badflüssigkeit wurden 50 ml Tyrode-Lösung (18) bei 37° C genommen. Die Schreibhebelübertragung zum Rußkymograph betrug 1:3,5. Der Spasmus wurde neutrop mit 1,5 bzw. 2 γ Acetylcholin-Chlorid gesetzt.

2) Sekretionshemmende Wirkung.

Die Versuchsanordnung wurde nach E. Eichenberger und J. Emmrich (19) zur Senkung der Salivation beim Kaninchen gewählt. Für jede Dosis wurden drei mittlere männliche Tiere eingesetzt. Der Normalfluß des Speichels nach Pilocarpinbehandlung (1,0 mg Pilocarpin-Hydrochlorid/kg/iv.) wurde als 100% angenommen. Die zu prüfenden Präparate wurden anschließend mit dem Pilocarpin zusammen intravenös gegeben. Durch intraperitoneale Verabreichung von 0,5 g/kg Aethylurethan wurden die Versuchstiere in leichter Narkose gehalten.

3) Mydriatische Wirkung.

Nach der Methode von P. Pulewka (20) wurde die Einwirkung auf die Pupillenweite der weißen Maus geprüft. Im Dunkelzimmer wurde zweimal kurz vor Anwendung des Präparates

und alle fünfzehn Minuten nach Behandlung der Pupillen-Durchmesser gemessen. Die Pupillenweite des unbehandelten Tieres wurde als 100% gesetzt. Die Präparate wurden subcutan gegeben. Die Messung erfolgte mit einem Präparier-Mikroskop mit sechsfacher Vergrößerung und einem eingebauten Okular-Mikrometer. Zur Beleuchtung wurde eine matte Mikroskopierlampe mit 35 Watt in 30 cm Abstand verwendet.

Die tageszeitlichen Schwankungen in den Messergebnissen veranlassten, die Versuche zwischen 10.30 Uhr und 17.00 Uhr auszuführen.

4) Potenzierung narkotischer Wirkung.

Im Seitenlagetest an der Maus in Anlehnung an die Versuche von W. Theobald und R. Domenjoz (21) wurde die Potenzierung der Inactin-Narkose (Inactin = 5-Aethyl-5-(1-methyl-propyl)-- thiobarbitursäure) geprüft. Um eine Verstärkung der Narkosewirkung besser erkennen zu können, wurde die Kontrollserie mit einer Dosis behandelt, welche ca. 50% der Tiere kurz narkotisierte. Als Kriterium der Schlafdauer wurde das Verharren der Mäuse in Seitenlage benutzt. Die Prüfsubstanz wurde 30 Minuten vor der Narkose subcutan gegeben.

5) Wirkung auf das Gefäss-Präparat.

Am Wasserfrosch wurde das Froschgefässpräparat nach Läwen (22) - Trendelenburg (23) hergestellt. Die Durchströmung des Frosches geschah nach H. Führer (24). Die Tropfenzählung wurde elektronisch gemessen und auf einen Russkymograph durch den Totalisator nach Professor Fleisch übertragen.

6) Wirkung auf das isolierte Kaltblüterherz.

Das Straubsche Froschherz wurde nach H. Führer (25) isoliert. Der Versuch wurde mit einer feuchten Kammer bei Zimmertemperatur vorgenommen. Die Schreibhebelübertragung war 1 : 3,5.

D. Zusammenfassung

In vorliegender Arbeit wird das von R. Oberle (1) beschriebene, aus den Früchten und Blättern der in Südamerika heimischen Datura Pittieri (Safford) isolierbare Alkaloid I in seiner Struktur aufgeklärt und pharmakologisch untersucht.

Durch Extraktion der Früchte mit ammoniakalischem Chloroform wird zunächst ein Rohalkaloidbasengemisch erhalten, das neben Alkaloid I auch Atropin, Scopolamin und Scopolin enthält. R. Oberle (1) gelang die Isolierung von Alkaloid I aus dem Rohalkaloidbasengemisch durch Verteilungschromatographie an gepufferten Silicagel. In dieser Arbeit wird nun gezeigt, daß auch 26-stufige Craig-Verteilungen in dem System Chloroform-Zitronensäure-Phosphat-Puffer bei p_H 5,5 und 6,1 zu dem gleichen Ziel führen, wobei nun vorteilhafterweise größere, d. h. bis zu 30-Gramm-Mengen an Rohalkaloidbasengemisch eingesetzt werden können.

Alkaloid I wird in Form seines Hydrobromids ($C_{17}H_{21}NO_5 \cdot HBr$) charakterisiert, das bei alkalischer Hydrolyse Scopolin und (-)-α-Phenylglycerinsäure bildet. Bei schonender Hydrolyse des Alkaloid-I-Methoxymethobromids nach der Methode von J. Meinwald und O. L. Chapman (3) wird Scopin erhalten, dessen Identität mit authentischem Scopin durch Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt, durch Papierchromatographie und IR-Spektroskopie sichergestellt wird. Alkaloid I ist somit neben Scopolamin das zweite natürlich vorkommende Tropaalkaloid, das Scopin als Alkaminkomponente aufweist.

Eine Identität der razemisierten Säurekomponente von Alkaloid I mit synthetischer α-Phenylglycerinsäure wird durch Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt, durch Papierchromatographie, sowie durch IR-und UV-Spektroskopie erbracht. Bemerkenswert ist das natürliche Vorkommen der bisher unbekannten linksdrehenden Form der α-Phenylglycerinsäure.

Pharmakologisch wird Alkaloid I im Vergleich mit Atropin und Scopolamin auf eine spasmolytische, mydriatische und sekretionshemmende Wirkung, ferner auf eine Gefäßwirkung und eine potenzierende Wirkung auf die Barbituratnarkose hin untersucht und dabei festgestellt, daß es ähnliche, wenn auch graduell verschiedene Wirkungen wie die genannten Tropaalkaloide aufweist.

E. Literaturverzeichnis

1) : R. Oberle, Ueber die in Datura Pittieri (Safford) enthaltenen Alkaloide, Dissertation, Erlangen 1959.
2) : H. Thies u. F. W. Reuther, Naturwissenschaften 41, 230 (1954).
3) : J. Meinwald u. O. L. Chapman, J. Amer. chem. Soc. 79, 665-66 (1957).
4) : R. B. Moffett u. E. R. Garrett, J. Amer. chem. Soc. 77, 1245 (1955).
5) : M. Pesez u. J. Ferrero, Bull. Soc. Chim. biol. 39, 221-22 (1957).
6) : E. Merck, Chromatographie, S. 157, Nr. 94a.
7) : W. Mayer u. F. Merger, Liebigs Ann. Chem. 644, 65-69 (1961).
8) : A. Kerr, J. chem. Soc. (London) 1927, 1943-48.
9) : L. F. Fieser u. M. Fieser, Lehrbuch der organischen Chemie, S. 305, Verlag Chemie GMBH, Weinheim/Bergstraße 1960.
10) : A. Jindra, S. Zadražil u. S. Černá, Collect. czechoslov. chem. Commun. 24, 2761-67 (1959).
11) : R. J. Cheftel, R. Munier u. M. Macheboeuf, Bull. Soc. Chim. biol. 33, 840-45 (1951).
12) : H. R. Henze u. W. C. Craig, J. org. Chemistry 10, 2-9 (1945).
13) : W. C. Craig u. H. R. Henze, J. org. Chemistry 10, 16-20 (1945).
14) : R. Möhlau, Chem. Ber. 15, 2465 (1882).
15) : G. R. Cebrián, Anales real soc. espaň. fís y quím, Ser. B, 44, 587-92 (1948).
16) : Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, IV/2, S. 519 ff., Gg. Thieme Verlag, Stuttgart 1955.
17) : R. Magnus, Pflügers Arch. ges. Physiol. Menschen Tiere 102, 123 (1904).
18) : J. H. Burn, Biologische Auswertungsmethoden, S. 46, Springer-Verlag Berlin 1937.
19) : E. Eichenberger u. J. Emmrich, Schweiz. med. Wschr. 86, 1102 (1956).

20) : P. Pulewka, Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Pathol. Pharmakol. 168, 306 (1932).
21) : W. Theobald u. R. Domenjoz, Arzneimittel-Forsch. 9, 285 (1959).
22) : A. Läwen, Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Pathol. Pharmakol. 51, 415 (1904).
23) : P. Trendelenburg, Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Pathol. Pharmakol. 63, 161 (1910).
24) : H. Führer, Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden von Abderhalden, Abt. IV, Teil 7 I, S. 577 (1925).
25) : H. Führer, Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden von Abderhalden, Abt. IV, Teil 7 I,S. 552 (1923).

Lebenslauf.

Am 5. Februar 1935 wurde ich, Hans Jürgen Zolleis, als Sohn des Apothekers Hans Zolleis und seiner Ehefrau Ursula, geborenen Blochwitz, in Nürnberg geboren.
Von 1941 bis 1945 besuchte ich die Volksschule in Nürnberg, Zeitz und Hersbruck und trat dann in das Neue Gymnasium in Nürnberg ein, an dem ich 1953 das Abitur ablegte. Im Oktober 1953 trat ich in die Königstorapotheke in Nürnberg als Apothekerpraktikant ein und legte dort nach zwei Jahren im September 1955 das Pharmazeutische Vorexamen ab. Zum Studium der Pharmazie besuchte ich anschließend 8 Semester die Friedrich-Alexander-Universität in Erlangen und absolvierte dort im Oktober 1959 das Pharmazeutische Staatsexamen.
Im Mai 1960 konnte ich mit der vorliegenden Arbeit beginnen, die unter der Anleitung von Herrn Professor Dr. R. Pfleger durchgeführt wurde. Im Februar 1962 fand sie ihren praktischen Abschluß. Nun bewerbe ich mich zum ersten Mal um den Doktorgrad bei der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg.